

Aus dem Institut für Hygiene
der Bundesanstalt für Milchforschung in Kiel
(Direktor: Prof.Dr. A.Tolle)

**ZUR BAKTERIELLEN FLORAANALYSE IN MILCH
UND MILCHPRODUKTEN MIT HILFE EINES
MINIATURISIERTEN TESTSYSTEMS**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

INGRID OTTE

Tierärztin aus Rostock

Berlin 1976

Journal-Nr. 877



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Hygiene
der Bundesanstalt für MilCHForschung in Kiel
(Direktor: Prof.Dr. A.Tolle)

**ZUR BAKTERIELLEN FLORAANALYSE IN MILCH
UND MILCHPRODUKTEN MIT HILFE EINES
MINIATURISIERTEN TESTSYSTEMS**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

INGRID OTTE

Tierärztin aus Rostock

Berlin 1976

Journal-Nr. 877

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Vorsitzender des FBR:	Prof. Dr. H.-H. Frey
Referent:	Prof. Dr. H.-J. Sinell
Korreferent:	Prof. Dr. E. Hellmann



Tag der Promotion: 5. Oktober 1976

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
2. SCHRIFTTUM	4
2.1 Bakterienflora in Milch und Milchprodukten	4
2.1.1 Rohmilch	4
2.1.2 Vorzugsmilch	13
2.1.3 Trinkmilch	13
2.1.4 Sahne	15
2.1.5 Trockenmilch und Säuglingsnahrung	15
2.1.6 Quark	19
2.1.7 Weichkäse	19
2.1.8 Schnitt- und Hartkäse	22
2.1.9 Schmelzkäse	23
2.1.10 Joghurt	24
2.1.11 Butter	25
2.1.12 Speiseeis	26
2.2 Primärtests zur Identifizierung von Bakterien auf der Ebene des genus	28
2.2.1 Prinzipien	28
2.3 Sekundärtests zur Identifizierung von Bakterien auf der Ebene der species	31
2.3.1 Prinzipien	31
2.3.2 Miniaturisierte Systeme	34
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	35
3.1 Material	35
3.1.1 Referenzstämme zur Entwicklung eines Mikrotiter-Primärtest-Systems (MPT-System)	35
3.1.2 Milch und Milchprodukte zur Floraanalyse	35

	Seite
3.2 M e t h o d i k	37
3.2.1 Prüfung der Referenzstämme im konventionellen Verfahren und im MPT-System	37
3.2.2 Isolierung von Stämmen aus Milch und Milchprodukten	45
3.2.2.1 Aufbereitung des Probenmaterials	45
3.2.2.2 Anreicherung und Identifizierung pathogener Keime mit Hilfe konventioneller Verfahren	45
3.2.2.3 Nachweis von Indikatororganismen mit Hilfe konventioneller Verfahren	48
3.2.2.4 Bestimmung der Gesamtkeimzahl	49
3.2.2.5 MPT-System zur Floraanalyse	49
3.3 D a t e n v e r a r b e i t u n g	50
3.3.1 Auswertung der Primärtests (Referenzstämme)	50
3.3.2 Auswertung der Primärtests (Feldstämme)	56
3.4 E r g e b n i s s e	59
3.4.1 Pathogene Keime und Indikatororganismen	59
3.4.2 Vergleich der Keimzahlen auf Plate-count-Agar und Blutagar	61
3.4.3 Vergleich der Primärtests im konventionellen Verfahren und im MPT-System (Referenzstämme)	63
3.4.4 Vergleich des konventionellen Systems mit Referenzwerten	64
3.4.5 Vergleich des MPT-Systems mit den Referenzwerten	66
3.4.6 Primärtests im MPT-System - Feldstämme	70
3.4.7 Floraanalyse aus Milch und Milchprodukten im MPT-System (Roh- und Trinkmilch, Schlagsahne, Trockenmilch, Säuglingsnahrung, Quark, Weich-, Schnitt-, Hart und Schmelzkäse, Joghurt, Butter, Speiseeis)	74
4. SCHLUSSBEMERKUNGEN UND DISKUSSION	102
5. ZUSAMMENFASSUNG	114
6. LITERATURVERZEICHNIS	120
ANHANG	158

EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

In der Lebensmittelindustrie im allgemeinen und im besonderen Ausmaß in der Milchindustrie vollzieht sich seit etwa 15 Jahren ein ständiger Prozeß der Konzentrierung und Rationalisierung. Die Rohmaterialien werden in immer größeren Mengen zu Produkten verarbeitet. Dieses ist zwangsläufig mit einer zeitlich und räumlich immer weiter werdenden Spanne zwischen Erzeugung der Rohmaterialien und dem Konsum der Endprodukte verbunden. Gleichzeitig erwartet der Verbraucher in zunehmendem Maße bis zur Tischfertigkeit vorbereitete Nahrungsmittel. Diese wirtschaftlichen und technologischen Entwicklungen sowie der internationale Verkehr mit Futter- und Lebensmitteln, der Massentourismus und der Trend zur Gemeinschaftsverpflegung sind zwangsläufig mit einem deutlich erhöhten mikrobiellen Risiko verbunden. Eine solche Situation erfordert eine leistungsfähige, der Lebensmittelherstellung adäquate Laboratoriumstechnologie, von der Entnahme einer auf einem Mindestniveau repräsentativen Probe und deren Konservierung über die eigentliche Analytik und deren Qualitätskontrolle bis zur Auswertung und Dokumentation.

Die Lebensmittelmikrobiologie ist jedoch ein vergleichsweise junger Zweig der nunmehr 100 Jahre alten mikrobiologischen Wissenschaft. Zwar haben sich die Lebensmittelhygieniker seit der Entwicklung bakteriologischer Arbeitsmethoden insbesondere durch Robert KOCH und seine Schüler der Anreicherung und selektiven Züchtung zum Nachweis pathogener Keime bedient und hiermit wesentlich zu einer Verbesserung der Lebensbedingungen des Menschen in der Industriegesellschaft beigetragen, eine ökologische und damit die Gesamtflora einbeziehende Betrachtungsweise tritt jedoch erst in jüngeren Jahren in den Vordergrund. Wenn wir die Tatsache hinnehmen, daß bestimmte Nahrungsmittel nicht sterilisiert werden können, dann muß auch das ökologische Prinzip akzeptiert werden, daß durch die technologische Behandlung solche wünschenswerten Bakterien einen Selektionsvorteil erhalten, die gegenüber pathogenen Mikroben und Verderbniserregern antagonistisch wirken.

Obgleich Nahrungsmittel durch eine Vielzahl von Mikroben kontaminiert werden, kann durch die biochemische und physikalische Eigenart des jeweiligen Lebensmittels (Zusammensetzung, Struktur, a_w -Wert, pH-Wert, Redoxpotential, O_2 - bzw. CO_2 -Spannung u.a.) nur eine relativ überschaubare Mikrobenassoziation zur Entwicklung kommen. Bisher haben wir noch verhältnismäßig geringe Kenntnisse über die typische mikrobielle Assoziation und die biochemischen Leistungen der Mikroorganismen in Wechselwirkung mit den verschiedenen Nahrungsmitteln und deren Aufbewahrungsbedingungen. Eine wesentliche Ursache hierfür liegt sicherlich im Fehlen eines adäquaten analytischen Instrumentariums. Der Umfang der zu bewältigenden Aufgabe einer Floraanalyse wird nur durch eine Umstellung von der bisher geübten vorwiegend manuellen und personalintensiven Arbeitsweise auf eine zunehmende Mechanisierung und Automatisierung erreicht werden können. Im Bereich der klinischen Chemie ist diese Entwicklung bereits weitgehend vollzogen. Die Erstellung eines bakteriologischen Befundes ist jedoch ein sehr komplexer, aus vielen Einzelschritten zusammengesetzter, insbesondere durch längere Inkubationszeiten diskontinuierlicher Prozeß, der bestenfalls einer Mechanisierung, auf längere Sicht jedoch noch nicht einer Automatisierung zugeführt werden kann. In der Mechanisierung bis dahin manueller oder visueller Arbeitsprozesse in der Bakteriologie sind in den letzten Jahren bereits wesentliche Fortschritte erzielt worden (TOLLE, 1975), so die

- Homogenisierung festen Untersuchungsmaterials für die bakteriologische Untersuchung,
- instrumentelle Herstellung von Platten oder Bändern für die Keimzahlbestimmung auf verschiedenen Nährmedien,
- Auszählung von Makro- oder Mikrokolonien mit Hilfe der Computer-Bildanalyse, Laserstrahlen oder elektronischer Partikelzähler,
- mechanisierte Bestimmung bakterieller Metaboliten wie freie Fettsäuren, freie Aminosäuren, Ammoniak, Laktat und Pyruvat.

Eine Beschleunigung, Vereinfachung und Standardisierung der schwierigen Identifizierungsarbeit kann insbesondere durch die Miniaturisierung von Kulturgefäßen und biochemischen Reaktionssystemen erzielt werden, wie sie für die Enterobacteriaceen-Diagnostik bereits erreicht ist. Diese Entwicklung dürfte erst am Beginn stehen und wesentlich zu einer Vereinheitlichung der bakteriologischen Diagnostik beitragen. Unter den miniaturisierten Systemen scheint das von FUNG und HARTMANN (1975) für bestimmte bakteriologische Zwecke eingeführte Mikrotiter-System eine interessante Möglichkeit zu sein, die diffizile und aufwendige Identifizierung von Bakterien durch Einsparung von Raum, Material, Kosten und Zeit effektiver zu gestalten.

Im Rahmen eines Forschungsvorhabens der Arbeitsgruppe Bakteriologie des Instituts für Hygiene der Bundesanstalt für Milchforschung wurde mir von Herrn Professor Dr. Tolle die Aufgabe übertragen:

1. Morphologische und physiologische Primärtestprinzipien (Gramverhalten, Beweglichkeit, Sporenbildung, Säurefestigkeit, Sauerstoff-Bedarf, Art des Glukoseabbaus, Nachweis von Katalase und Cytochromoxydase) im Mikrotiter-System zu miniaturisieren;
2. an Referenzstämmen und an aus Milch und Milchprodukten isolierten Bakterien eine Aussage darüber zu treffen, welche Sicherheit dieses Mikrotiter-Primärtest-System (= MPT-System) gegenüber konventionellen Primärtest-Verfahren besitzt und
3. das MPT-System zur Floraanalyse von Milch und Milchprodukten einzusetzen.

2. SCHRIFTTUM

2.1 Bakterienflora in Milch und Milchprodukten

Milch ist in physikalischer und chemischer Hinsicht ein überaus komplex zusammengesetztes Medium, das auch Mikroben als vorzügliches Nährsubstrat dienen kann. Während sie im gesunden Parenchym der Milchdrüse steril ist (TOLLE u. ZEIDLER, 1969; GROSSBERGER, 1971), wird sie bei der Gewinnung und Behandlung einer praktisch unvermeidbaren bakteriellen Kontamination und Keimvermehrung ausgesetzt. Angaben über Art und Umfang der in Rohmilch, Trinkmilch und verschiedenen Milchprodukten nachgewiesenen Mikroben sind im Schrifttum meist unter dem Aspekt einer bestimmten Keimart, Gattung oder anderweitigen Klassifizierung unter kaum vergleichbaren Bedingungen von Material und Methoden beschrieben worden. So ist es kaum möglich, ein geschlossenes Bild über das bakteriologische Profil der Produkte zu erhalten. Nachstehend wird der Versuch unternommen, die publizierten Einzelergebnisse, nach Produktgruppen geordnet, soweit möglich tabellarisch zu verdichten.

2.1.1 Rohmilch

Mastitiserreger

Ein erheblicher Teil der Kühe ist auf einem oder mehreren Vierteln subklinisch erkrankt. Etwa 90 % bis 95 % aller Mastitiden werden durch *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* (Sc.) *agalactiae*, *Sc. dysgalactiae* und *Sc. uberis* verursacht (IDF, 1971) (s. Tab. 1-4).

Nachweis von Staph. aureus in Rohmilch-Proben		
Autor	Anz.und Art d. Proben	Staph.aureus pos. %
PAPAVASSILIOU und OBIGER, 1959	265 Einzelgemelks- proben	34,05
WILSON, 1963	4 929 Einzelgemelks- proben	17,9
JOHNSTON et al., 1966	6 323 Viertelgemelks- proben	8,7
NURMI und KOIRANEN, 1967	1 004 Viertelgemelks- proben	28,1
ZEIDLER et al., 1968	11 292 Viertelgemelks- proben	8,5
FRANK, 1969	1 935 Einzelgemelks- proben	14,7
KIELWEIN und JENRICH zitiert KIELWEIN, 1970	1 500 Viertelgemelks- proben	8,8

75/476 I a

Tabelle 1

Nachweis von Sc. agalactiae in Rohmilch-Proben					
Autor	Probenart	Anzahl der		Anteil v.Sc.agalactiae (%)	
		Proben	Sc.-Stämme	an Proben	an Sc.-Stämmen
SHIMZU, et al., 1959	Viertelgemelk	3 508	126	3,6	39,5
WILSON, 1963	Einzelgemelk	4 929		8,7	
BRUMMER, 1964	Viertelgemelk		312		53,0
BOGE, 1965	Viertelgemelk		160		44,0
HEESCHEN und MEYER, 1965	Einzel- und Viertelgemelk	ca. 5 000	194	ca. 0,5	11,9
MAIER, 1964	Viertelgemelk		441		92,0
WALSER, 1966	Viertelgemelk		2 780		42,0
KOWALCZYK und ZABOLICKY, 1968	Einzelgemelk		307		35,8
LORENZEN, 1968	Einzelgemelk		1 427		79,0
ZEIDLER et al., 1968	Viertelgemelk	11 292	1 541	1,7	12,5
FRANK, 1969	Einzelgemelk	1 935	635	22,1	67,4
JELINKOVA und HEESCHEN, 1969	Viertelgemelk	3 944	83	0,4	20,5
JELINKOVA und HEESCHEN, 1969	Viertelgemelk	4 904	228	4,7	32,0
GREER und PEARSON, 1973	Einzelgemelk	4 221		12,3	

75/485 L a

Tabelle 2

Nachweis von <i>Sc. dysgalactiae</i> in Rohmilchproben					
Autor	Probenart	Anzahl der		Anteil v. <i>Sc. dysgalactiae</i> (%)	
		Proben	<i>Sc.</i> -Stämme	an Proben	an <i>Sc.</i> -Stämmen
KOWALCZYK, 1963	Viertelgemelk		256		7,4
WILSON, 1963	Viertelgemelk	4 929		4,5	
HEESCHEN und MEYER, 1965	Viertelgemelk	ca. 5 000	194	ca. 1,0	24,7
KUNTER, 1966	Viertelgemelk		2 590		5,3
KOWALCZYK und ZABOLICKI, 1968	Viertelgemelk		307		31,6
ZEIDLER et al., 1968	Viertelgemelk	11 292	1 541	1,3	9,3
FRANK, 1969	Einzelgemelk	1 935	635	2,3	7,1

75/486 La

Tabelle 3

Nachweis von <i>Sc. uberis</i> in Rohmilchproben					
Autor	Probenart	Anzahl der		Anteil v. <i>Sc. uberis</i> (%)	
		Proben	<i>Sc.</i> -Stämme	an Proben	an <i>Sc.</i> -Stämmen
de MOOR und VISSER, 1960	Einzelgemelk		379		17,7
HUGHES, 1960	Einzelgemelk	4 000		18,0	
KOWALCZYK, 1963	Viertelgemelk		256		40,6
WILSON, 1963	Einzelgemelk	4 929		7,5	
SWENNEY, 1964	Viertelgemelk	587		2,9	
HEESCHEN und MEYER, 1965	Einzel- und Viertelgemelk	ca. 5 000	194	ca. 0,9	23,7
KUNTER, 1966	Einzelgemelk		2 590		2,6
ENGBRETSEN, 1968	Viertelgemelk		134		35,1
KOWALCZYK und ZABOLICKI, 1968	Viertelgemelk		307		19,5
ZEIDLER et al., 1968	Viertelgemelk	11 292	1 541	1,6	11,6
FRANK, 1969	Einzelgemelk	1 935	635	3,2	9,6
ENGBRETSEN, 1972	Kannennmilch	14 301		5,0	

75/487 La

Tabelle 4

Corynebacterium pyogenes, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, Hefen und Pilze treten zumeist sporadisch auf und spielen deshalb im Gesamtgeschehen der Mastitis eine untergeordnete Rolle (AEHNELT, 1955; NEUMANN u. SEELIG, 1956; KÜTSCHKE, 1962; NEUDORF, 1963; KULLER, 1963; NILSON u. THÖRNE,

1963; WEIGT u. HERWING, 1967; HOFMANN et al., 1968; FRANK, 1969; von GRABE, 1969; SARAN-ROSENZUGAIG u. COHEN, 1972; ENGBRETSSEN et al., 1972; STÜNZI, 1973).

Kontamination mit Saprophyten

Auch bei eutergesunden Tieren wird die Milch spätestens bei der Passage des Strichkanals vereinzelt mit der dort persistierenden Flora, bestehend aus Mikrokokken, Streptokokken, Corynebakterien, Laktobazillen und anderen Keimen in der Größenordnung von 100 - 1 000/ml kontaminiert (SEELEMANN, 1942-1943; JAQUET et al., 1952; HAMMER u. BABEL, 1957; PETTE, 1962; OLSON, 1962; ABO-ELNAGA u. KANDLER, 1965; TERPLAN u. WIESNER, 1971).

Bei der konventionellen Zweiraumbecher-Melkmaschine wird während des Milchentzuges das Ende der Zitze regelmäßig mit Milch umspült, so daß die Hautflora dieser Region - vorwiegend Corynebakterien, Laktobazillen, Hefen, Staphylokokken, Mikrokokken und gramnegative Keime - die Milch verunreinigt (CULLEN, 1966; THOMAS, 1966; ALBRECHT, 1971; von BAER, 1971; Mc KINON et al., 1973).

Die intensive Durchmischung der Milch mit der Stallluft - pro Gemelk werden etwa 10 Liter Luft angesaugt - ist für die bakterielle Kontamination quantitativ von untergeordneter Bedeutung. Aerobe Sporenbildner stellen jedoch wegen ihrer Thermostabilität eine potentielle Verderbnisgefahr für alle wärmebehandelten Produkte dar (PETTE, 1962; KÄSTLI, 1963; ABO-ELNAGA, 1968; KURZWEIL u. BUSSE, 1973).

Die in der Praxis ausschlaggebende Kontaminationsquelle ist die milchberührte Innenfläche von Melkanlagen und Aufbewahrungsbehältnissen. Bis zu 90 % der in der ermolkenen Milch vorhandenen Bakterien können vom Melkgerät stammen. Keime der "Coli-Aerogenes-Gruppe", Mikrokokken, Corynebakterien, Streptokokken, Mikrobakterien, Laktobazillen, aerobe Sporenbildner, Pseudomonaden, Aeromonaden und Flavobakterien sind in einer Anzahl von 10^4 - 5×10^5 /ml vorhanden. Die Kontamination ist von der Sorgfalt der durchgeführten Reinigungs-

und Desinfektionsmaßnahmen und von der mikrobiologischen Beschaffenheit des Brauchwassers abhängig (s. Tab. 5 und 6) (FUTSCHIK, 1958; ENTSCHIEFF, 1960; KÄSTLI, 1963; BACIC u. CLEGG, 1967; ANNIBALDI, 1967; KATONA, 1968; BEYTHIEN, 1969; WIESNER u. HUMKE, 1972).

Prozentuale Verteilung der wichtigsten Keimgruppen aus Ablagerungen von Melkanlagen (nach ABO-ELNAGA u. KANDLER, 1965 a)								
Stall Nr.	Keimzahl/g $\times 10^6$	Thermo- resistente Keime	Coli- Aerogenes	Staphylo- kokken	Lakto- bazillen uav.	Strepto- kokken	Mikro- kokken	Mikro- bakterien
1	19 391,6	0,09	98	0,3	0,8	1,0	-	-
2	2 280,28	0,01	32,9	0,35	45,6	19,3	10,5	-
2619	29 590	49,2	0,17	0,11	41,9	37,7	19,6	-
2626	6 949,2	0,04	0,01	5,4	3,7	0,01	15,08	36,0
2614	76 027,8	0,001	9,8	<0,01	0,03	83,0	32,9	-
2621	5 232	19,0	57,3	<0,01	2,5	24,48	-	-
25	42 750,4	8,0	17,5	0,03	0,0009	17,9	46,29	4,0
23	270 000	35,0	<0,01	<0,01	<0,01	-	16,96	58,0
7	1 867	5,3	13,4	<0,01	19,1	16,6	0,5	-
12	44 900	12,9	<0,01	<0,01	0,66	2,7	59,66	-
15	17 759,3	0,88	0,01	<0,01	0,01	1,7	19,0	41,0

75/488 1g

Tabelle 5

Gegenüberstellung der Ergebnisse mikrobiologischer Untersuchungen von Melkmaschinen (nach GEIGES, 1972)			
Prozentualer Anteil der isolierten Bakterien			
Keimgruppe	THOMAS et al, 1966	ABO-ELNAGA und KANDLER, 1965 a	GEIGES, 1972
Mikrokokken	32,4	20,2	50,1
Corynebakterien	9,6	12,6	15,7
Aerobe Sporenbildner	3,8	-	0,5
Coliforme Bakt.	15,3	30,3	0,8
Gramnegative, pig- mentierte Stäbchen	10,3	10,3	3,9
Gramnegative, nicht pigment. Stäbchen	17,2	20,3	6,8
Streptokokken	6,4	-	17,6

75/489 1g

Tabelle 6

Neuere Untersuchungen von TWOMEY (1975) ergaben, daß in Melkanlagen coryneforme Bakterien und Mikrokokken dominieren. Die Florazusammensetzung ist abhängig von der Temperatur, der verwendeten Reinigungs- und Desinfektionslösung, der Probeentnahmestelle und der Jahreszeit.

Beim maschinellen Melken sind als praktisch unvermeidbare Primärkontamination 10^4 Keime/ml anzusehen (BUSSE, 1971; Mc KINON et al., 1973; IDF, 1975), wobei etwa die Hälfte der Keime der Milchdrüse entstammen (KURZWEIL u. BUSSE, 1973). In frisch ermolkenener Milch isolierten KURZWEIL u. BUSSE (1973a) Keimgruppen in unterschiedlicher Häufigkeit (s. Tab. 7).

Zusammensetzung der Bakterienflora frisch ermolkenener Milch (nach KURZWEIL und BUSSE, 1973 a)	
Bakteriengruppe	Anteil in %
Achromobakterien	11,3
Pseudomonas	5,2
Aeromonas	0,7
Enterobakterien	4,0
Staphylokokken	14,6
Mikrokokken	31,3
Enterokokken	5,7
sonst. Streptokokken	7,1
Coryneforme Bakterien	13,0
Laktobazillen	3,5
Sporenbildner	2,3
Streptomyceten	1,2

Tabelle 7

75/490 La

Mit zunehmender Keimzahl nimmt der Anteil der Mikrokokken und Staphylokokken ab, während der Anteil der aus der Melkanlage stammenden gramnegativen Keime zunimmt (BACIC u. CLEGG, 1967; KURZWEIL u. BUSSE, 1973). Wird der Wert von

10^4 Keimen/ml trotz gründlicher Reinigung und Desinfektion der Melkanlagen überschritten, so dominiert nach englischen Untersuchungen eine Flora von Mastitiserregern (COUSINS, 1975). Die Abhängigkeit unterschiedlicher Reinigungs- und Desinfektionsweisen auf den Anteil der psychrotrophen Bakterien geht aus der Tabelle 8 hervor.

Anzahl der psychrotrophen Keime in Melkmaschinenteilen (nach THOMAS und BLODWEN, 1973)					
		prozentuale Verteilung auf verschiedene Keimzahlbereiche/ft ²			
Melkmaschinenteil u. Reinigungs- methode	Anzahl der Spülproben	<10 000	10 000- 100 000	100 000 1 000 000	1 000 000
Melkbecher, Dampfsterilisator	105	92,4	3,8	1,9	1,9
Melkbecher, chemische Desin- fektion	291	71,4	14,1	6,9	7,6
Milchleitung, Zirkulations- reinigung	96	40,6	28,1	21,9	9,4

75/491 La

Tabelle 8

Bei sorgfältiger Gewinnung und Tiefkühlung der Milch auf 4° C bleibt die Keimzahl über 2 Tage hinweg konstant, anschließend beginnt eine deutliche Vermehrung der psychrotrophen Flora. Bei mäßiger oder mangelhafter Kühlung setzt die Vermehrung entsprechend früher ein (von BOCKELMANN, 1966). Psychrotrophe Bakterien stellen keine taxonomisch definierte Einheit dar, sind jedoch überwiegend gramnegativ. Sie können aus Wasser, Boden, Pflanzen sowie Faeces, aber nicht aus aseptisch gewonnener Milch isoliert werden (KIELWEIN, 1968). 3 % bis 80 % der Psychrotrophenflora der Rohmilch nehmen die Pseudomonaden ein (s. Tab. 9). Deren unterschiedliche Verteilung ist in Tabelle 10 zusammengefaßt.

Vorkommen psychrotropher Bakterien in gekühlter Rohmilch (nach THOMAS und BLOOMEN, 1973 a)										
Autor	Milchart	Anzahl der Isolierten Keime	Prozentualer Anteil der psychrotrophen Keimgruppen							
			Pseudo- monas	Achromo- bacter	Alcali- genes	Flavo- bacterium	Coli- Aero- genes	Arthro- bacter	Mikro- kokken	Verschieden- artige und nicht differenz. Mikroorg.
SEKHAR, 1947	gekühlte Rohmilch	179	15,1	45,3*	16,8	19,5	0,0	-	3,3	0,0
THOMAS und DRUCE, 1963	gekühlte Rohmilch	235	36,6	58,0*	0,8	0,4	2,1	2,1	0,0	0,0
FORSYTH, 1962	gekühlte Sammelmilch (Farm)	185	33,5	-	1,6	17,3	3,8	40,0	3,2	0,6
ORR et al, 1964	2 Tage ge- lagerte Sammelmilch	181	56,9	7,2	1,0	-	20,5	6,1	3,9	4,4
NAKANISHI et al, 1967	gekühlte Rohmilch	101	47,0	38,0	-	-	7,0	-	-	8,0
DEMPSTER, 1968	Farmmilch	142	47,1	8,6	-	2,8	33,1	-	2,1	6,3**
KIURU et al., 1971	Tankmilch, Farm	300	84,0	-	-	5,0	5,0	-	-	6,0
OSTENHAJMER u. MITIC, 1971	Tankmilch, Farm	128	3,0	12,0	5,0	22,0	16,0	9,0	27,0	6,0

* einschl. nicht-fluoreszierender Pseudomonas-Arten

** einschl. Arthrobacter, Aeromonas und Hefen

75/492 La

Tabelle 9

Vorkommen von Pseudomonaden in Rohmilch			
Autor	Anzahl der Proben	Pseudomonas-Arten	Prozentualer Anteil d.kontamin.Proben
TILL, 1969	290	Ps.fluorescens Ps.putida Ps.aeruginosa Ps.taetrolens Ps.fragi Ps.spp.	35,8 15,6 6,9 1,0 0,7 3,8
KIELWEIN, 1971a	295	Ps.fluorescens Ps.putida Ps.aeruginosa Ps.taetrolens Ps.fragi Ps.spp.	27,5 9,1 10,1 3,6 0,7 9,8
SCHÄFER, 1972	568	Ps.fluorescens Ps.putida Ps.aeruginosa Ps.taetrolens Ps.fragi Ps.spp.	25,9 13,3 8,4 3,6 3,4 7,2

76/035 La

Tabelle 10

Neben den Pseudomonaden gehören die Aeromonaden wegen ihrer hitzebeständigen Lipasen zu den bedeutungsvollen Vertretern der psychrotrophen Milchflora. Brauchwasser, Luft, Futter, Faeces, Euteroberfläche und Melkgeräte sind das Keimreservoir (KIELWEIN, 1969; BEYTHIEN, 1969; ALBRECHT, 1971). Coliforme Bakterien (Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Hafnia, Serratia) (REUTER, 1972) gelten als Indikator für die hygienischen Bedingungen der Milchgewinnung (s. Tab. 11) (KIELWEIN, 1970; KURZWEIL u. BUSSE, 1973a). Milch sollte weniger als 100 coliforme Keime/ml enthalten (THOMAS u. DRUCE, 1972; KURZWEIL u. BUSSE, 1973a).

Prozentuale Verteilung des Coli-Titers bzw. Anzahl coliformer Keime in Sammelmilchproben (nach THOMAS und DRUCE, 1972)						
Autor	Anz. der Proben	Inkuba- tions- temp.	1ml neg. <1/ml	1ml pos. 1-10/ml	0,1ml pos. >10-100/ml	0,01ml pos. >100/ml
<u>Tankmilch, Farm</u>						
SMILLIE, 1958	402	37°	25,6	29,4	25,4	19,6
		30°	--	--	--	29,6
THOM, 1959	230	37°	--	--	--	9,6
ORR, 1960	358	37°	69,0	12,6	13,9	4,5
MCKENZIE, 1966	100	32°	--	--	--	17,0
THOMAS et al. 1966a	369	30°	18,7	47,2	26,0	8,1
DRUCE, 1970	106	30°	22,0	--	--	30,2
JONES et al. 1971	188	30°	9,5	12,8	28,2	49,5
LOANE, 1965	654	30°+	--	--	--	14,0
TATINI, 1965	758	32°+	--	--	--	45,8
OHRI u. SLATTER, 1966	287	32°+	--	--	--	40,0
<u>Ablieferungsmilch, 2 Tage gelagert</u>						
ORR et al., 1964	90	30°	58,9	22,2	15,6	3,3
ORR et al., 1965	128	30°+	--	--	--	25,4
DRUCE, 1970	106	30°	--	11,0	23,9	65,1
BOCKELMANN, 1967	671	30°+	Gehalt von 800 - 3600/ml 6,7% mit coliformen Zahl > 400/ml			
RONNING, 1970	7888	30°+				
<u>Tankwagenproben</u>						
SMILLIE, 1958	77	30°	--	--	--	44,0
THOM, 1959	49	37°	--	--	--	20,0
ORR et al., 1960	52	37°	--	61,6	36,5	2,0
THOMAS et al., 1966b	68	30°	2,9	7,4	52,9	36,8
McLARTY u. ROBB, 1968	196	30°+	--	--	--	78,0
BUCY u. RANDOLPH, 1966	180	32°+	--	--	--	83,0

* Coli-Aerogenes-Koloniezähl auf VRB-Agar oder Desoxycholat-Lactose-Agar

* Coli-Aerogenes-Koloniezahl auf VRB-Agar oder Desoxycholet-Lactose-Agar

[76/493 Ld]

Tabelle 11

2.1.2 Vorzugsmilch

Vorzugsmilch und Milch, die den Bestimmungen der Ab-Hof-Abgabe-Verordnung (1973) unterliegt, gelangen roh zum Verbraucher. Die strengen gesetzlichen Regelungen sollen primär die Abgabe von Milch euterkranker Tiere verhindern. Trotzdem konnten in repräsentativen Untersuchungen aus ca. 3 500 Vorzugsmilchproben in 20,4 % *Sc. agalactiae* (HAHN et al., 1972) und bei anderen Prüfungen bis zu 50 % koagulasepositive Staphylokokken (RACKOW, 1962; RAUSING u. JOHANNSEN, 1962; RACKOW u. POPPE, 1963; SEELEMANN et al., 1963; RITTMAYER, 1964; FEILS, 1966; LORENZEN, 1968) isoliert werden. LOCHMANN (1953) wies enteropathogene Colibakterien in einem von fünf untersuchten Betrieben nach. STEFFEN (1972) ermittelte Vorzugsmilch als Quelle einer *Salmonella typhimurium*-Epidemie.

2.1.3 Trinkmilch

Durch die Pasteurisierung werden ca. 98 % der Keime - insbesondere alle pathogenen Bakterien - inaktiviert, wobei eine Selektion folgender thermoresistenter Bakterien erfolgt:

Anaerobe Sporenbildner:

Cl. perfringens, *Cl. butyricum*, *Cl. sporogenes*, *Cl. tyrobutyricum* (PAPAVASSILIOU, 1956; IENISTEA u. IONESCU, 1967; GUDKOV, 1968; KIRSANOV, 1971)

Aerobe Sporenbildner:

Bac. subtilis, *Bac. cereus*, *Bac. circulans*, *Bac. licheniformis*, *Bac. pumilus* (PETTE, 1962; CIBLIS, 1965; IONESCU et al., 1966; SHEHATA u. COLLINS, 1971)

Streptokokken:

Sc. thermophilus, *Sc. durans*, *Sc. bovis*, *Sc. faecalis* (PAPAVASSILIOU, 1955; PETTE, 1962; CIBLIS, 1965; MARTIN-WEDARD, 1965; STADHOUDERS, 1972)

Mikrokokken:

Mc. luteus, *Mc. caseolyticus*, *Mc. varians* (THOME u. LJUNGGREN, 1957; PETTE, 1962; CIBLIS, 1965; ABO-ELNAGA, 1966)

sowie Mikrobakterien, *Alcaligenes tolerans* und *Brevibakterien* (ABO-EL-MALEK u. GIBSON, 1952 u. 1952a; PAPA VASSILIOU, 1955; PETTE, 1962; CIBLIS, 1965; MANTRE-ALHONEN, 1969; STADHOUDERS, 1972).

Andere Keime wie coliforme Bakterien, Aeromonaden, Pseudomonaden, Lactis- und Cremoris-Streptokokken, Laktobazillen und Staphylokokken werden durch die gesetzlich vorgeschriebene Wärmebehandlung inaktiviert und weisen auf eine Rekontamination hin (PETTE, 1962; ABO-ELNAGA u. KANDLER, 1965b; MILLER, 1966; FRANK, 1968; KLEE BERGER, 1970; KIELWEIN, 1971). Die Haltbarkeit wird durch den Rekontaminationsgrad bestimmt.

Als pathogene Keime konnten in Einzelfällen *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen werden (DELIS, 1961; THÜRNE u. ANDREN, 1964; Ernährungsbericht, 1976).

Während früher durch Salmonellen bedingte Milchepidemien häufiger auftraten (s. Tab. 12), werden sie in neuerer Literatur kaum noch beschrieben.

Krankheitsausbrüche durch mit Salmonellen kontaminierte pasteurisierte Milch			
Autor	Erreger	Kontaminationsquelle	Zahl der Erkrankten
THOMAS et al. 1948	<i>S. paratyphi</i> B	Molkerei (Brauchwasser)	55
RUYS, 1948	<i>S. typhi</i>	Molkerei (Mensch)	175
WERNER u. ZÜCKLER, 1949	<i>S. paratyphi</i> B	Molkerei (Mensch)	635
GLAWATZ u. BRAUNE, 1949	<i>S. typhi</i>	Molkerei (Mensch)	323
STAACK, 1953	<i>S. paratyphi</i> B	Molkerei (Mensch)	126
RIDDELL, 1954	<i>S. typhimurium</i>	Molkerei (Mensch)	300
FROMME, 1956	<i>S. typhi</i>	Molkerei (Mensch)	592
MATHUR, 1959	<i>S. paratyphi</i> B	Kanne	1 Familie
NYSTRÖM et al., 1964	<i>S. weltevreden</i>	Molkerei (Rohmilch)	34
ANDERS, 1967	<i>S. dublin</i>	Molkerei	210
	<i>S. typhi</i>		

75/494 La

Tabelle 12

2.1.4 Sahne

Der relativ hohe Keimgehalt und häufige Nachweis coliformer Bakterien und Staphylokokken sind ein Zeichen für die oft unbefriedigende hygienische Qualität der Sahne (FOLTZ et al., 1960; ROEMMELE u. DANNEEL, 1964; BLUMENTHAL, 1968; JENKINS u. HENDERSON, 1969; KOHNECHAHRI et al., 1972). Aerobe und anaerobe Sporenbildner, Mikrokokken, Streptokokken und Mikrobakterien gelten als "originäre Flora", während gram-negative psychrotrophe Stäbchen, Staphylokokken und Laktobazillen größtenteils auf eine Rekontamination zurückzuführen sind (ERDMANN u. THORNTON, 1951 u. 1951 a; SCHULTZE u. OLSON, 1960 u. 1960a; SCHORMÜLLER, 1968; THOMAS, 1970; KIELWEIN, 1971a). Nach KIELWEIN (1970) enthielten 36,7 % von 180 gekühlten Sahneproben *Pseudomonaden*. Der Erhöhung der Schlagfähigkeit dienende Rahmsäuerungskulturen (*Sc. lactis*) werden durch die Thermisierung inaktiviert (SCHORMÜLLER, 1968).

Wird Sahne bei 15° C gelagert, so dominiert häufig *Bacillus cereus* (DAVIS, 1969). Gelegentlich wurden koagulasepositive Staphylokokken, die in England eine Lebensmittelvergiftung auslösten (Public Health Lab. Serv., 1960), und *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen (FOLTZ et al., 1960; QUESEDA u. SOLDATI, 1969; KIELWEIN, 1971a; AFANASIEVA et al., 1973).

2.1.5 Trockenmilch und Säuglingsnahrung

Trockenmilch und Säuglingsnahrung, die überwiegend aus Milch hergestellt wird, zeigen eine ähnliche Keimflora. Der Erhitzungs- und Trocknungsprozeß führt dazu, daß nur thermoresistente Bakterien - Sporenbildner, *Microbacterium lacticum*, einige Streptokokken- und Mikrokokkenarten - überleben (ROEMMELE, 1957; GALESLOOT u. STADHOUDERS, 1968). Nach der Trocknung tritt häufig eine Rekontamination mit anderen Bakterien auf (KEHOUGH, 1970). Die Keimzahl dieser Produkte verringert sich jedoch bei ordnungsgemäßer Lagerung

auf Grund des niedrigen a_w -Wertes (PLANINC u. MILOHNOJA, 1968). Befunde coliformer Keime sind in der Tabelle 13 und 14 wiedergegeben.

Nachweis coliformer Bakterien in Trockenmilch		
Autor	Anzahl der Proben	Anteil in %
RICHTER, 1959	155	29,7
CIBLIS und SCHWARZ, 1962	11	0,0
SCHÖNHERR, 1962	70	18,6
GIFFEY, 1963	62	1,6
HALL et al., 1967	223	8,5
PLANINC und MILOHNOJA, 1968	47	2,1
KRAMPE, 1972	80	3,8

75/495 La

Tabelle 13

Nachweis coliformer Bakterien in Säuglingsnahrung			
Autor	Produktart	Anzahl der Proben	Anteil in %
ROEMMELE, 1957	Kindertrockenmilch	50	14,0
ROEMMELE und WESTPHAL, 1957	Kindertrockenmilch	156	1,3
PUSCH, 1958	Säuglingstrockenmilch	65	0,0
BULLING, 1959	Kindernahrung	29	17,2
FROMM und STRAHTMANN, 1970	Säuglingsnahrung	6	1,7
FROMM und STRAHTMANN, 1970	Milchbrei	5	0,0
KRAMPE, 1972	Säuglingsnahrung	60	8,3

75/496 La

Tabelle 14

Von 1129 Milchpulverproben überschritten 42 den in Polen für Enterokokken vorgeschriebenen Grenzwert (Abwesenheit in 0,01 g bei Säuglingsnahrung). Auch HASHIMOTO, 1968, PLANINC u. MILOHNOJA, 1968 sowie KRAMPE, 1972 wiesen in ihrem Untersuchungsmaterial häufig Enterokokken nach.

Als pathogene Bakterien wurden koagulasepositive Staphylokokken (s. Tab. 15) sowie Bac. cereus (KÖNNING, 1972) isoliert.

Vorkommen koagulasepositiver Staphylokokken in Milchpulver		
Autor	Anzahl der Proben	Anteil in %
BURBIANKA et al., 1967	1129	0,1
PLANINC und MILOHNOJA, 1968	47	0,0
OVEJERO del AGUA und SUAERZ FERNANDEZ, 1971	168	20,2
KRAMPE, 1972	80	17,5
KRAMPE, 1972	60 ⁺	39,7
⁺ Säuglingsnahrung		

Tabelle 15

75/497 La

In den USA ergaben Verfolgsuntersuchungen bei Trockenmilch, daß Produkte von 8 Produzenten regelmäßig mit Salmonellen kontaminiert waren (s. Tab. 16) (RAY et al., 1971).

Prozentuales Vorkommen unterschiedlicher Salmonellen-species in verschiedenen Trockenmilchchargen		
Produkt	Anteil in %	Serotypen
Magermilchpulver	18,4	S. typhimurium, S. java, S. bockley
Magermilchpulver	14,0	S. anatum
Magermilchpulver	27,9	S. montevideo
Magermilchpulver, instant	7,9	S. oranienburg
Magermilchpulver, Vollmilchpulver, Buttermilchmix	4,4	S. minnesota, S. kentucky, S. tennessee
Magermilchpulver	0,9	S. anatum, S. derby, S. falkensee, S. kentucky, S. seigberg, S. taksony, S. uzaramo
Magermilchpulver verschiedene Produkte	10,0	S. cubana, S. newington
	11,1	S. anatum

75/498 La

Tabelle 16

Anaerobe Sporenbildner sind wegen der Pathogenität einiger species (*Cl. botulinum*, *Cl. perfringens*) sowie ihrer proteolytischen Fähigkeiten von hygienischer Bedeutung. Die veröffentlichten Befunde beruhen fast ausschließlich auf der WEINZIRL-Probe, Identifizierungen wurden nicht vorgenommen (s. Tab. 17).

Nachweis von Clostridien in Trockenmilch und Säuglingsnahrung			
Autor	Produkt	Anzahl der Proben	Anteil in %
ROEMMELE, 1957	Kindertrockenmilch	50	42,0
PUSCH, 1958	Säuglingstrocken- milch	65	26,2
BULLING, 1959	Säuglingsnahrung	29	34,5
BULLING, 1959	Milchpulver	4	25,0
CIBLIS und SCHWARZ, 1962	Milchpulver	10	60,0
GIFFEY, 1963	Milchpulver	67	0,0
KRAMPE, 1972	Milchpulver	80	50,0

75/499 La

Tabelle 17

2.1.6 Quark

1 g Frischkäse enthält nach der Herstellung 10^8 bis 10^9 Milchsäurebildner (*Sc. cremoris*, *Sc. lactis*, *Sc. diacetylactis*, *Leuconostoc*, *Sc. thermophilus*, *L. bulgaricus*), die in unterschiedlichem Verhältnis zueinander der Milch zugesetzt werden (MAIR-WALDBURG, 1968).

Die thermoresistente Restflora und die saprophytäre Kontaminationsflora besteht aus aeroben und anaeroben Sporenbildnern, Mikrokokken, Pseudomonaden, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Proteus*, *Aerobacter* (*Enterobacter*), *Citrobacter*, *Flavobakterien*, Hefen und Pilzen (SCHULTZE u. OLSON, 1960 u. 1960a; REIDY u. HEDRICK, 1968; MAIR-WALDBURG, 1968; KIRSANOV, 1971; IKONOMOV, 1974).

An pathogenen Keimen konnten in Einzelfällen Salmonellen, enteropathogene Colibakterien und *Staph. aureus* ermittelt werden (NIKHINSON et al., 1962; TRINKO, 1972; AFANASIEVA et al., 1973; FARKHONDEH et al., 1974).

Bei Lebensmittelvergiftungen sind in drei Fällen *Salmonella typhimurium* und bei kleineren Ausbrüchen in der Schweiz *Staph. aureus* nachgewiesen worden (D'YAKONOVA, 1962; BASARAB et al., 1964; MARTINETTO u. PANIZZA, 1969; MARTI, 1973).

2.1.7 Weichkäse

Weichkäse reifen von innen nach außen. Demzufolge sind Unterschiede qualitativer und quantitativer Art in der Mikroflora der Randzone und dem Inneren feststellbar (SCHOR-MÜLLER, 1968) s. Tab. 18).

Prozentuale Zusammensetzung der Mikroorganismenflora von Romadurkässe (7 und 21 Tage nach der Herstellung) (nach SCHWARZ et al., 1954)							
7 Tage nach Herstellung							
Probenmaterial	Stäbchen	Mikro- kokken	Mikro- bakterien	Strepto- kokken	Milchsäure- langstäbchen	Hefen	Oosporen
Käse-Oberfläche	13,9	36,9	14,5	4,8	-	24,2	5,7
Käse-Inneres	2,2	13,0	-	78,3	-	6,5	-
21 Tage nach Herstellung							
Käse-Oberfläche	43,3	24,4	20,0	11,1	-	0,7	0,6
Käse-Inneres	2,3	6,8	1,1	44,3	45,4	-	-

75/500 Lg

Tabelle 18

Säuerungs- und Reifungskulturen können in unterschiedlicher Menge und Verteilung gefunden werden: *Sc. cremoris*, *Sc. lactis*, *Sc. bovis*, *Sc. faecalis*, *Lactobacillus helveticus*, *L. lactis*, *L. casei* und *L. plantarum*. Während des Reifungsprozesses ist eine Abnahme der Streptokokken, die nahezu 100 % der Kesselmilchflora stellen, auf 60 % und ein Anstieg der zunächst nicht nachweisbaren Laktobazillen auf 30 % zu verzeichnen. Die Zahl der Mikrokokken wird mit 10^6 /g, die der Colibakterien zwischen 0 - 50/g angegeben (EIGEL, 1948; KUNDRAT, 1951; KURMANN, 1957 und 1957a; KIKUCHI, 1966; SCHORMÜLLER, 1968).

Die auf die Oberfläche verbrachte sogenannte "Rotschmiere", eine Suspension von *Brevibacterium linens*, entwickelt das charakteristische Flavour. Neben Brevibakterien wurden hauptsächlich pigmentierte Mikrokokken und Corynebakterien isoliert. Bei überlagertem oder unsachgemäß hergestelltem Käse wurden Pseudomonaden, Aeromonaden (*Aerobacter*), *E. coli*, *Proteus*, Nocardien und *Myxobacter* gefunden (MAIR-WALDBURG, 1968; ABO-ELNAGA, 1974).

Bei Weichkäse mit Schimmelbildung ist die Oberfläche mit *Oidien*, Hefen, Mikrokokken, Brevibakterien und Corynebakterien

terien besiedelt. Der sich ausbildende Schimmelpilzrasen besteht überwiegend aus *Penicillium camemberti* und verleiht den Käsen das produktspezifische Flavour (LÜBENAU-NESTLE u. MAIR-WALDBURG, 1968).

Aus 119 einschließlich Rinde analysierten Camembert- und Brie-Käsen (BECK u. MANTEL, 1974) wurden folgende Keimarten mit einer Überschreitung von 10^6 /g isoliert:

Aerobe Sporenbildner	6,6 %
Enterobacteriaceen	43,7 %
Enterokokken	21,2 %
Mikrokokken	28,5 %
Pseudomonaden	23,6 %
Laktobazillen	89,1 %
Schimmelpilze	89,0 %

Koagulasepositive Staphylokokken, Salmonellen und *E. coli* vermehren sich in den ersten Stunden der Herstellung, ihre Zahl sinkt aber bei normaler Reifung schnell ab (NEVOT et al., 1963; SOMM, 1970; ABO-ELNAGA, 1972; JAQUET u. COIFFIER, 1973). Trotzdem sind enteropathogene Colibakterien in Handelsproben nachgewiesen worden (BECK u. MANTEL, 1974; NENKOV, 1974; PARK et al., 1974).

Durch Weichkäse hervorgerufene Lebensmittelvergiftungen sind aus der Tabelle 19 ersichtlich. Die Kontaminationsquelle für *Cl. botulinum* war vermutlich Stroh, auf dem der Brie-Käse gelagert worden war.

Lebensmittelvergiftungen durch Weichkäse			
Autor	Erreger	Kontaminiertes Lebensmittel	Zahl der Erkrankungen
BONITZ, 1953 ZURECK, 1953 RHODE und BISCHOFF, 1956	Salmonella bareilly	Camembert	6.000-10.000
LEGLER et al., 1957	Staph. aureus	Camembert	nicht bekannt Erkrankungen in 3 fränkischen Kreisen
SZTURN-ROBIN- STEIN et al., 1965	Shigella sonnei	Weichkäse	3 Familien
MARIER et al., 1973	Dyspepsiecoli	Camembert	387
GILLES et al., 1974	Cl.botulinum	Brie	75

75/501 Lg

Tabelle 19

2.1.8 Schnitt- und Hartkäse

Glykolytische und proteolytische Bakterien sowie die Oberflächenflora entsprechen der des Weichkäses (LÜBENAU-NESTLE u. MAIR-WALDBURG, 1965 u. 1968; RITTER u. SCHWAB, 1968; DEVOYOD et al., 1968 u. 1972; STEFFEN, 1972; WEGNER u. BEHNKE, 1972; VEAUX et al., 1974).

Als Besonderheit ist zu bemerken, daß *Leuconostoc citrovorum*, *Sc. diacetylactis*, *L. fermenti* und *L. brevis* bei bestimmten Käsesorten die erwünschte Lochbildung hervorrufen (LÜBENAU-NESTLE und MAIR-WALDBURG, 1968; DEVOYOD et al., 1972; STEFFEN, 1972). Bei Emmentaler Käse ist dies auf Propionibakterien zurückzuführen (LÜBENAU-NESTLE u. MAIR-WALDBURG, 1968; KUNDRAT, 1971; MAURER, 1974). Folgende Bakteriengruppen sind außerdem nachgewiesen worden: Streptokokken einschließlich Enterokokken, *Leuconostoc*, Laktobazillen, Pediokokken, Mikrokokken, Mikrobakterien, Propionibakterien, Brevibakterien, Corynebakterien, aerobe und anaerobe Sporenbildner, "Coli-Aerogenes-Keime", Pseudomonaden, Flavobakterien,

Achromobacter, Alcaligenes, Streptobakterien, Arthrobacter, Mycobakterien und Nocardien. Bei den einzelnen Untersuchungen treten allerdings erhebliche Schwankungen hinsichtlich Art und Anzahl auf (FRYER et al., 1966; van KERKEN u. KANDLER, 1966; LÜBENAU-NESTLE u. MAIR-WALDBURG, 1968; PETRICA et al., 1968; TOURNEUR, 1970; KRISTENSEN, 1970; KIELWEIN, 1970; SIMONART u. POFPE, 1970; GHONIEM, 1971; GILLES, 1971; WEGNER u. BEHNKE, 1972; BROOKS, 1974; MANOKLIDIS et al., 1974; DOMMETT, 1970 u. 1974; MILLET et al., 1974; CROMBACH, 1974; SINELL, 1975).

Besonders gefürchtet ist das "Aufgasen" der Käse. Während Enterobacter aerogenes, E. coli und Pseudomonaden die Frühblähung hervorrufen (LÜBENAU-NESTLE u. MAIR-WALDBURG, 1968; ABO-ELNAGA, 1969; KIELWEIN, 1975), sind Clostridien, besonders Cl. tyrobutyricum, Ursache der Spätblähung (LÜBENAU-NESTLE u. MAIR-WALDBURG, 1968; KUNDRAT, 1971).

Als pathogene Keime sind koagulasepositive Staphylokokken und Salmonellen isoliert worden (SHARPE et al., 1965; RIVAS et al., 1965; ZOTTOLA et al., 1969; IENISTEA et al., 1971; GOSH u. LAXMINARAYANA, 1972; LUKASOVA u. VAVROVA, 1974; DEVOYD u. MILLET, 1974; SINELL, 1975), die gelegentlich auch zu Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen geführt haben (TUCKER, 1946; Public Health Lab. Serv. 1958, 1960, 1961 u. 1962; ALLEN u. STOVALL, 1960; HAUSLER et al., 1960; DONNELLY et al., 1964; MARTI, 1973).

2.1.9 Schmelzkäse

Die Schmelzkäseflora wird aus den Restkeimen der Rohware und den im Schmelzkessel und Füllautomaten vorhandenen Bakterien gebildet. Der Keimgehalt ist gering. Wird das Ausgangsmaterial bei 120° C geschmolzen, so sind die Erzeugnisse praktisch keimfrei (LÜBENAU-NESTLE u. MAIR-WALDBURG, 1968).

In Abhängigkeit vom Herstellungsverfahren werden jedoch aerobe und anaerobe Sporenbildner, Mikrokokken, thermophile

Milchsäurebakterien und Propionibakterien beobachtet, die sich jedoch während der Lagerung kaum vermehren (LÜBENAU-NESTLE u. MAIR-WALDBURG, 1968). Clostridien, namentlich *Cl. sporogenes*, *Cl. tyrobutyricum*, *Cl. butyricum*, *Cl. putrefaciens* und *Cl. tetanomorphum* können zu "Blähungen" des Schmelzkäses führen. Obwohl ein Großteil der Handelsware diese Gärungserreger enthält, werden Veränderungen selten registriert (CSISZAR, 1931; GUHT, 1954; MAIR-WALDBURG u. STURM, 1957; GALESLOOT, 1961).

2.1.10 Joghurt

Für die Joghurtherstellung ist eine intensive thermische Behandlung (80° - 95° C, 5-30 Minuten) der Rohmilch notwendig (HOSTETTLER, 1968; KIERMEIER u. LECHNER, 1973; ARNOTT et al., 1974).

Die Fermentation wird dann in synergistischer Weise durch *Sc. thermophilus* und *L. bulgaricus* bewirkt (HOSTETTLER, 1968; DAVIS et al., 1971; ARNOTT et al. 1974).

Als unerwünschte Kontaminanten dominieren Pilze und Hefen (HOSTETTLER, 1968; DAVIS et al., 1971), aber auch coliforme Bakterien, Pseudomonaden und Enterokokken konnten nachgewiesen werden.

Vorkommen (in %) von coliformen Bakterien, Enterokokken und Staphylokokken in Joghurt				
	Anzahl der Proben	Coliforme Bakterien	Enterokokken	Staphylokokken
ROEMMELE und DANNEEL, 1964	nicht angegeben	8,2	nicht geprüft	nicht geprüft
KIELWEIN, 1970	48	>300 Colif./g 2,0 ⁺	nicht geprüft	nicht geprüft
FEILS, 1970	191	21,0	nicht geprüft	nicht geprüft
TZANETAKIS, 1972	217	47,0	nicht geprüft	nicht geprüft
ARNOTT et al., 1973	152	13,8	36,2	27,6
PAPAVASSILIOU, 1973	100	30,0	46,0	negativ
PUHAN, 1975	269	10,0	nicht geprüft	nicht geprüft

⁺ Pseudomonaden

75/502 La

Tabelle 20

Die in Tabelle 20 dargestellten Befunde widersprechen jedoch den aus Modellversuchen gewonnenen Ergebnissen von

GOEL et al., (1970) sowie MINOR und MARTH (1970, 1971 u. 1972), die selbst bei hohen Inokulationsmengen von *Enterobacter aerogenes*, *E. coli* bzw. *Staph. aureus* diese Bakterien nach wenigen Tagen nicht mehr nachweisen konnten.

An pathogenen Bakterien wurden folgende isoliert: *Bac. cereus* (PAPAVASSILIOU et al., 1973) und koagulasepositive Staphylokokken (Public Health Lab. Serv., 1972; ARNOTT et al., 1974). KUHNT (1974) identifizierte Staphylokokkenenterotoxin in Fruchtojoghurt.

Sauermilchprodukte lösten bisher nur in osteuropäischen Ländern Staphylokokkenintoxikationen aus (KRASMINSKAJA, 1960; KOROLJOWA, 1964).

2.1.11 Butter

Die dominierenden Bakterien der Butter sind Milchsäurestreptokokken, oft als Mehrstammkulturen - *Sc. cremoris*, *Sc. lactis*, *Sc. diacetylactis*, *Leuconostoc citrovorum*, *Leuconostoc paracitrovorum* - zur Fermentation eingesetzt. Außerdem sind auch die im Rahm vorhandenen thermoresistenten Keime stets nachweisbar (ABD-EL-MALEK u. GIBSON, 1952 u. 1952a; DEMETER, 1956; EISENREICH, 1968).

Während der Lagerung nehmen sowohl die zugesetzten Milchsäurebakterien als auch die thermoresistenten Bakterien ab, während die Zahl der Laktobazillen und "Fremdkeime" ansteigt (DEMETER, 1956; EISENREICH, 1968).

Eine ungenügende Lagerfähigkeit ist immer dann anzutreffen, wenn Butter mit gramnegativen Stäbchen ("*Coli-Aerogenes*-Keime", *Pseudomonaden*, *Flavobakterien* usw.) verunreinigt ist (FUCHS, 1949; THOMSON, 1950; STEFANOWA-KONDRATENKO u. TZANEWA, 1967). Butterfehler werden vielfach durch die psychrotrophen Kontaminanten hervorgerufen (STORGARDS u. HIETARANTA, 1949). Nach FUCHS (1949) sowie THOMAS und DRUCE (1971) handelt es sich dabei hauptsächlich um *Achromobacter*, *Flavobakterien*, *Pseudomonaden*, *Alcaligenes* und *Aeromonaden*.

KIELWEIN (1971a) hat mit abnehmender Häufigkeit folgende Pseudomonaden isoliert: *Ps. fluorescens*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. putida*, *Ps. caseolytica*, *Ps. putrefaciens*, *Ps. fragi* und *Ps. taetrolens*. Die sensorische Wertigkeit wurde dabei durch die von *Ps. fluorescens* und *Ps. putrefaciens* ausgelösten Geruchs- und Geschmacksveränderungen am stärksten beeinträchtigt (KIELWEIN, 1971a).

Koagulasepositive Staphylokokken bleiben bis zu 6 Monaten in Butter lebensfähig (BRYAN u. BRYAN, 1944), wenngleich sie ebenso wie enteropathogene Colibakterien und Salmonellen in Handelsproben selten nachgewiesen werden (IORDANOV et al., 1954; ROTHSCILD, 1970; AFANASIEVA et al., 1973; NENKOV 1974; SINGH u. RANGANATHAN, 1974). 1970 wurde in Atlanta/ USA eine Staphylokokkenintoxikation durch Butter ausgelöst (National Center of Disease Control, 1970). Mit *Shigella sonnei* kontaminierte Butter war die Ursache einer Lebensmittelvergiftung in der DDR (CLEMENS u. KRÜGER, 1972).

2.1.12 Speiseeis

Die mengenmäßige Verteilung der Mikroflora von 274 Speiseeisproben geht aus der Tabelle 21 hervor.

Prozentuale Verteilung von Keimzahlbereichen unter Berücksichtigung verschiedener Bakteriengruppen in 274 Speiseeisproben (nach DOBBERTIN u. SIEMS, 1975)				
	Anteil in %			
Keimzahl bereich	Micro- coccaceae	Enterokokken	Coliforme	Entero- bacteriaceae
$< 10^2$	75,2	88,7	46,4	56,6
10^2	16,1	4,4	23,7	17,5
10^3	3,0	2,6	21,5	19,7
10^4	4,4	1,8	6,2	4,7
10^5	1,5	2,6	2,2	1,1
10^6	-	-	-	0,4
10^7	-	-	-	-

76/138 La

Tabelle 21

Bei 39 % der Proben wurden Laktobazillen ermittelt, 75,6 % der Proben enthielten Pseudomonaden (DOBBERTIN u. SIEMS, 1975).

Bac. cereus, Ps. aeruginosa, enteropathogene Colibakterien, koagulasepositive Staphylokokken, β -hämolyisierende Streptokokken und Salmonellen wurden als Krankheitserreger nachgewiesen (BOESE, 1953; CALCANIS, 1962; FILJACK, 1969; PAGARIA u. SARASWAT, 1969; SINGH et al., 1970; WÜSTENBERG, 1970; MALAKI et al., 1970; IENISTEA et al., 1971; BALACESCU, 1974; LUKASOVA u. VAVROVA, 1974; NENKOV, 1974; SINGH u. RANGANATHAN, 1974; DOBBERTIN u. SIEMS, 1975).

Unter den Lebensmittelvergiftungen stehen Staphylokokken-Intoxikationen an erster Stelle, gefolgt von Salmonellen, Shigellen, enteropathogenen Colibakterien und β -hämolyisierenden Streptokokken (NIKODEMUSZ, 1965) (s. Tab. 22).

Lebensmittelvergiftungen durch Speiseeis		
Autor	Erreger	Zahl der Erkrankungen
SEIDEL et al., 1962	Staph. aureus	32
BIERSCHENK, 1962	Salm. infantis	180
SCHMIDT-LANGE und TRAUPE, 1963	Shigella sonnei	127
KOSCHUCHAROFF und STAWREFF, 1964	Shigella flexneri	81
SZEKELYFÜLDI, 1964	Staph. aureus	220
WINKLER, 1964	Staph. aureus	70
COSTIN et al., 1965	Staph. aureus	5
DARDZINSKI, 1965	Staph. aureus	96
GIANUZZO et al., 1968	Salm. typhimurium	248
ENHUBER, 1971	Staph. aureus	84
TAYLOR et al., 1974	E. coli	132
PRIMAVESI, 1973	Salm. enteritidis	16

Tabelle 22

75/504 Lg

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die Flora von Milch und Milchprodukten qualitativ und quantitativ außerordentlich unterschiedlich ist und pathogene Keime in den letzten Jahren in abnehmender Tendenz nachgewiesen werden. Unter den Nahrungsmitteln, nach deren Genuß Lebensmittelvergiftungen auftreten, haben Milch und Milchprodukte einen vergleichsweise niedrigen Anteil (RIEMANN, 1969).

2.2 P r i m ä r t e s t s z u r I d e n t i f i z i e r u n g v o n B a k t e r i e n a u f d e r E b e n e d e s g e n u s

2.2.1 P r i n z i p i e n

Die hygienisch-bakteriologische Wertigkeit eines Lebensmittels wird primär durch die An- oder Abwesenheit pathogener Bakterien und/oder Bakterientoxine bestimmt. Pathogene Keime müssen für epidemiologische Zwecke bis zur species, subspecies bzw. variatio identifiziert werden.

Bei Saprophyten dürfte dagegen die Bestimmung der Gattung im allgemeinen ausreichen. Hierfür wurden sogenannte Primärtests herangezogen, die sich - nach jahrelangen Untersuchungen von COWAN und STEEL (1961) an Referenzstämmen (NCTC) - als ausreichende Schlüsselkriterien für die Differenzierung der meisten Bakterien bis hin zur Gattung erwiesen.

Gram-Färbung

Grampositive Bakterien halten - im Gegensatz zu gramnegativen - bei einer Alkohol- oder Acetonbehandlung den Farbstoff-Jod-Komplex zurück. Dieses Verhalten ist nach wie vor ein taxonomisches Schlüsselkriterium und korreliert mit anderen Eigenschaften der Bakterien. Da die Grampositivität vor allem bei älteren Kulturen verloren gehen kann, sind junge Kulturen am besten vor Ende der logarithmischen Wachstumsphase zu verwenden. Zur Verbesserung der Beurteilung wurden zahlreiche Modifikationen entwickelt (HUCKER, 1927; Society of American Bacteriologists, 1957). FUNG (1975) automatisierte den Färbevorgang.

Morphologie

Das bekannte morphologische Erscheinungsbild kann durch Nährmedien und Inkubationsbedingungen beeinflusst werden.

Säurefestigkeit

Bakterien, die einer Entfärbung mit starken Säuren oder Säure-Äthanol-ischungen (ZIEHL-NEELSEN-Färbung) widerstehen, lassen sich dadurch gegenüber anderen abgrenzen.

Mit wenigen Ausnahmen sind Mycobakterien die typischen Vertreter dieser Gruppe.

Sporen

Die Sporenbildung wird durch Milieufaktoren beeinflusst. Bei vegetativen Zellen kann sie induziert werden durch

- Überimpfung in aqua destillata
- Zugabe von NH_3 , KNO_3 , NaNO_2 , Ca- oder Mn-Salzen zu den Nährmedien oder
- Subkultivierung auf stärkehaltigen Nährmedien

(THIMANN, 1964).

Die Sporen selbst werden mit speziellen Färbemethoden dargestellt (MOELLER, 1891; RAKETTE, zit. nach WINKLE, 1955). Indirekt können sie nach Erhitzung der Kultur für 10 Minuten auf 80°C und anschließender Subkultivierung nachgewiesen werden.

Beweglichkeit

Die Beweglichkeit ist im starken Maße von der Temperatur abhängig. Bei 37°C wird sie häufig reduziert.

Die Prüfung der Beweglichkeit kann vorgenommen werden im

- hängenden Tropfen
- Phasenkontrastmikroskop
- Dunkelfeldmikroskop
- Beweglichkeitsagar.

Die Geißeldarstellung ist ebenfalls möglich.

(HALLMANN, 1961; BLAIR et al., 1970).

FUNG und HARTMANN (1975) verwendeten zum Beweglichkeitstest Mikrotiter-Tabletts, die SELLER's Medium oder SIM-Medium (Sulfid, Indol, motility) enthielten.

Katalase

Der Nachweis dieses Fermentes ist einfach und bereitet selten Schwierigkeiten, obwohl einige Stämme nur schwach positiv reagieren.

Als Testmethoden werden empfohlen

- Verbringen des Testmaterials auf Filterpapierscheiben, die in 3 %iger H_2O_2 -Lösung liegen (COWAN u. STEEL, 1974)
- Zugabe einer 3-10 %igen H_2O_2 -Lösung zur Bouillon-Kultur (HALLMANN, 1961);
- Auftropfen einer 3-10 %igen H_2O_2 -Lösung auf die Kolonie (de LEY, 1958; Society of American Bacteriologists, 1957)
- Mikroreaktion auf dem Objektträger (THOMAS, 1963)

Mikrotests wurden von CLARK und COWAN (1952) sowie von FUNG und PETRISHKO (1973) entwickelt.

Cytochromoxydase (Oxydase)

Dieser Test findet zur Differenzierung von Neisseria aus Mischkulturen und zur Unterscheidung von Pseudomonaden, Aeromonaden usw. von Enterobacteriaceen Verwendung.

Als Reagenzien, die bei Anwesenheit von Cytochromoxydase in rote oder blaue Oxydationsprodukte umgewandelt werden, dienen:

- Tetramethyl-p-phenylendiaminhydrochlorid
- Lösungsgemisch aus Dimethyl-p-phenylendiaminhydrochlorid oder -oxalat und α -Naphthol (NADI-Reagenz)
- Dimethyl-p-phenylendiaminoxalat.

Die Prüfungen können sowohl im Tropf- als auch im Filterpapierstreifenverfahren vorgenommen werden. Das Patho-tec-rapid-System enthält Cytochromoxydase-Teststreifen (ALMADEN, 1938; KOVACS, 1956; GABY u. HADLEY, 1957, WILSON u. MILES, 1964; KRONISH, 1975).

Oxydations-Fermentations (O/F)-Test

Zur Feststellung, ob es sich bei einer Zuckerspaltung um eine Oxydation oder Fermentation handelt, wird die Metabolisierung unter aeroben und anaeroben Bedingungen geprüft. Oxydierende Bakterien zeigen Säurebildung in dem nicht mit Paraffin überschichteten Röhrchen, während fermentierende

Mikroben auch unter anaeroben Bedingungen Säure aus Kohlenhydraten bilden. Als Reaktionskörper findet im Primärtest Glukose Verwendung. Zur Durchführung des Tests werden zahlreiche Medien und Modifikationen empfohlen (HUGH u. LEIFSON, 1953; HUGH u. RYCHENKOW, 1961; KOONTZ u. FABER, 1963; LEIFSON, 1963). Der O/F-Test ist einer der wichtigsten Unterscheidungsschritte zur Identifizierung aerober Bakterien. Die meisten genera enthalten species, die Glukose oxydieren oder fermentieren. Sind innerhalb einer Gattung species vorhanden, die Glukose oxydieren und andere, die Glukose fermentieren, so sollte eine taxonomische Unterscheidung getroffen werden.

Sauerstoffbedarf

Mit Ausnahme der obligaten Anaerobier leben alle anderen Bakterien in einem breiten Sauerstoffspektrum (von mikroaerophil bis aerob). Während im O/F-Test nur der anaerobe Kohlenhydratabbau geprüft wird, werden alle anderen Stoffwechselkriterien unter aeroben Bedingungen durchgeführt.

2.3 S e k u n d ä r t e s t s z u r I d e n t i f i - z i e r u n g d e r B a k t e r i e n a u f d e r E b e n e d e r s p e c i e s

2.3.1 Prinzipien

Durch den Einsatz weiterer Tests, sogenannter Sekundärtests, kann die Identifizierung bis zur species vorgenommen werden. Einige der Tests sollen hier angeführt werden.

Hämolyse

Bei Staphylokokken und Streptokokken werden verschiedene Hämolyseformen unterschieden, während dieses Phänomen bei anderen Keimarten als vorhanden oder nicht vorhanden eingeordnet wird. Die Hämolyse wird in starkem Maße vom Blutmedium und den Inkubationsbedingungen beeinflusst.

Koagulase-Bildung

Bestimmte Staphylokokken besitzen die Eigenschaft, Plasma von Mensch und Haustieren zu koagulieren. Dieses wird durch zwei Substanzen, die gebundene und die freie Koagulase, bewirkt. Für vom Menschen isolierte Stämme ist Humanplasma oder solches vom Kaninchen besonders geeignet, für vom Tier isolierte das der jeweiligen Tierspecies. Während im Röhrchentest beide Koagulasen nicht zu differenzieren sind, wird bei der Objektträger-Methode nur die gebundene Koagulase nachgewiesen (CADMESS-GRAVES et al., 1943).

Lecithinase-Bildung

Lecithinasebildende Bakterien können auf Eigelbmedien erkannt werden. Die Lecithinase diffundiert in den Agar und hydrolysiert Glycerinphosphatid. Um die entsprechenden Kolonien entstehen opaleszierende Zonen (KNIGHT und PROOM, 1950; BROWN et al., 1958).

Desaminierung von Phenylalanin

Phenylalanin kann durch oxydative Desaminierung zur Phenylbrenztraubensäure umgewandelt werden, deren Identifizierung durch Zugabe von Eisenchlorid möglich ist (SINGER u. VOLCANI, 1955). Der Test ist spezifisch für Proteus und Providencia (HENRIKSEN, 1950; BUTTIAUX et al., 1954; SINGER u. BAR-CHAY, 1954; SHAW u. CLARKE, 1955).

Urease-Bildung

Dieser Prüfung dienen Spezialmedien (CHRISTENSEN, 1946). Während Proteusarten Harnstoff metabolisieren können, benötigen die meisten anderen ureasebildenden Mikroorganismen eine zusätzliche Stickstoffquelle. Der Nachweis der Ureaseaktivität erfolgt durch Bildung alkalischer Substanzen (Ammoniak) aus Harnstoff (JEFFRIES, 1964).

Wachstum auf spezifischen Nährmedien

Die unterschiedlichen Nährstoffbedürfnisse der Bakterien sind gleichzeitig bewährte Differenzierungsmerkmale. Hierzu

dienen Nährmedien, denen definierte Substanzen zugesetzt worden sind. Im Vordergrund der praktischen Arbeit steht die Resistenzprüfung gegenüber Gallesalzen (Streptokokken), verschiedenen Kochsalzkonzentrationen (Staphylococcus aureus) und zahlreichen Farbstoffen (Streptokokken, Mycobakterien, Enterobacteriaceen).

Indol-Bildung

Das flüchtige Indol kann mit Hilfe von p-Dimethylaminobenzaldehyd oder mit Oxalsäure getränkten Papierstreifen nachgewiesen werden (HOLMANN u. GONZALES, 1923; GILLIES, 1956). Beide Methoden liefern annähernd gleiche Ergebnisse. Eine Extraktion des Indols aus der flüssigen Kultur mit Äther, Xylol oder Petroleum steigert die Empfindlichkeit des Tests. Beim KOVACS-Reagenz (KOVACS, 1959) ist von Vorteil, daß es das Lösungsmittel (Amylalkohol) enthält.

Methylrot- und VOGES-PROSKAUER-Reaktion

Beide Reaktionen dienen vornehmlich zur Differenzierung innerhalb der "Coli-Aerogenes-Gruppe". Mit Methylrot wird der Grad der pH-Verschiebung bei der Glukosespaltung sichtbar gemacht (CLARK u. LUBS, 1915). Acetylmethylcarbinol (Acetoin) ist ein Zwischenprodukt des Kohlenhydratabbaus und wird im alkalischen Milieu in Gegenwart von Luftsauerstoff und Pepton zu Diacetyl oxydiert, welches mit den Reagenzien Guanidin (O'MEARA, 1931), Kupfersulfat (LEIFSON, 1932) oder α -Naphthol (BARRIT, 1936) eine eosinrote Verbindung ergibt.

Citratverwertung

Diesem Reaktionsprinzip liegt ein Spezialmedium zugrunde, bei dem Citrat als einzige Kohlenstoffquelle dient (KOSER, 1923; SIMMONS, 1926). Durch Zugabe von Agar soll der Test beeinträchtigt werden (VAUGHN et al., 1950).

2.3.2 Miniaturisierte Systeme

Beim Vorliegen von Reinkulturen bzw. Einzelkolonien ermöglichen miniaturisierte Verfahren eine Beschleunigung und Standardisierung des diagnostischen procedere. So können Enterobacteriaceen durch kommerziell erhältliche Test-Systeme innerhalb von 4-24 Stunden identifiziert werden. Diese lassen sich 3 Gruppen zuordnen:

1. Minitests - in denen die Volumina der Kulturgefäße reduziert und die Konzentration der Inokula erhöht sind
z.B. API (Biologische Arbeitsgemeinschaft, Lich)
2. Multitest-Medien - bei denen zwei oder mehrere Reaktionen simultan beobachtet werden können
z.B. Enterotube (HOFFMANN- La ROCHE, Grenzach)
3. Streifen-Tests - bei denen Medien oder Reagenzien in imprägniertes Filterpapier eingeschlossen sind
z.B. Patho-Tec (Labordiagnostica Gödecke, Berlin)

Das Prinzip der Minitests in Mikrotiter-Tabletts kann den spezifischen Anforderungen eines Labors in flexibler Weise angepaßt werden. Das Mikrotiter-System hat sich auf verschiedenen Gebieten der Mikrobiologie bereits bewährt und ist für bakteriologische Belange von FUNG und HARTMANN (1975) geprüft worden. Seine Flexibilität, Material- und Zeitersparnis sowie die bestechend einfache Handhabung legen den Gedanken nahe, es für die Durchführung von Primär- und Sekundärtests im Rahmen einer umfassenden Floraanalyse einzusetzen.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 M a t e r i a l

3.1.1 Referenzstämme zur Entwicklung eines Mikrotiter-Primärtest-Systems (MPT-System)

Für die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Primärtests wurden species bzw. genera aus 8 Familien herangezogen (s. Tab. 23). Alle 94 Stämme wurden in 10 unabhängigen Ansätzen geprüft.

3.1.2 Milch und Milchprodukte zur Floraanalyse

Je 12 Proben Rohmilch, Trinkmilch, Trockenmilch, Säuglingsnahrung, Quark, Weichkäse, Hartkäse, Schmelzkäse, Butter, Joghurt und Speiseeis sowie 13 Proben Schlagsahne und 15 Proben Schnittkäse sind untersucht worden. Rohmilch wurde zum Zeitpunkt der Übergabe vom Erzeuger an die Molkerei entnommen. Trinkmilch und Milchprodukte sind in Supermärkten und Einzelhandelsgeschäften aus dem angebotenen Sortiment als zufällige Stichproben gekauft worden. Bis zur Untersuchung verblieben sie in der Originalverpackung. Alle Proben wurden entweder gleich nach Eingang oder am nächsten Tag (Aufbewahrung im Kühlschrank bei +4° C) den mikrobiologischen Prüfungen unterzogen.

Übersicht der verwendeten Referenzstämme

Familie	species bzw. genus	Stamm-Nr.	Herkunft
Pseudomonadaceae	Ps. aeruginosa	1/2 - 1/6, 9/1	Inst. f. Tierärztl. Nahrungsmittelkunde, Gießen
	Ps. fluorescens	1091, 1644, 1646, 1669 1677, 1715	" " "
	Ps. fragi	6/6 - 6/10	" " "
	Ps. putida	82, 1390, 1406	" " "
	Ps. spec. 1	7/5 - 7/9	" " "
	Ps. spec. 2	8/3, 24	" " "
	Ps. tactrolens	5/1, 5/7, 5/12, 119, 126	" " "
Vibrionaceae	Aeromonas	1631, 1667, 1676, 1720, 1760	" " "
Enterobacteriaceae	E. coli	79	Inst.f.Mikrobiologie d. BfM
	Salm. derby		" " "
	Salm. odense		" " "
	Proteus vulgaris		" " "
	Enterobact.aerogenes	10102	National Collection of Industrial Bacteria, Aberdeen
Streptococcaceae	Sc. bovis	499/6	Sc. Zentrale des Inst.f.Hyg.d. BfM
	Sc. durans	268	" " " " " " " "
	Sc.Serolog.Gr.D	82, 85, 86, 174	" " " " " " " "
	Sc.faecalis	26487	" " " " " " " "
	Sc.faecalis v.zymogenes	20225	" " " " " " " "
	Sc.faecium	174, 187, 193	" " " " " " " "
	Sc.Serolog.Gr.N	188, 189, 190, 191	" " " " " " " "
	Sc. MG	177	" " " " " " " "
	Sc. sanguis II	178, 209, 29521, 35897	" " " " " " " "
	Sc. uberis E	194	" " " " " " " "
Micrococcaceae	Sc. uberis	306, 307	" " " " " " " "
	Sc.viridans II u.IV	53950, 29505	" " " " " " " "
	M. caseolyticus	3251	NCIB Aberdeen
	M. conglomeratus	2677	" "
	M. flavus	8166	" "
	M. luteus	8165	" "
	M. rubens		Inst. f. Mikrobiologie d. BfM
Bacillaceae	S. aureus		" " " " " "
	Bac. alvei	1153	NC of Dairy Organismen, Reading
	Bac. badilus	1760	" " " " " "
	Bac. cereus	ATCC 11778	Landwirtsch. Untersuchungs- und Forsch.Anst., Kiel
	Bac. cereus	58	Inst. f. Mikrobiologie d. BfM
	Bac. cereus v.mycoides	DSM 303	GSF Göttingen
	Bac. circulans	DSM 11	" "
	Bac. laterosporus	1763	NC of Dairy Organismen, Reading
	Bac. coagulans	1761	" " " " " "
	Bac. lentus	DSM 9	GSF Göttingen
	Bac. licheniformis	DSM 358	" "
	Bac. megaterium	21/3/1	Inst.f.Mikrobiologie d. BfM
	Bac. polymyxa	DSM 356	GSF Göttingen
	Bac. putrefaciens	1141	NC of Dairy Organismen, Reading
	Bac. pumilus		Landwirtsch. Unters.u.Forsch.Anst., Kiel
	Bac. sphaericus	DSM 28	GSF Göttingen
Corynebacteriaceae	C. renale	7448	NCTC, London
	Microbact.flavum	1320	NC of Dairy Org., Reading
	Microbact.lacticum	747	" " " " " "
keine Zuordnung	List. monocytogenes		SC-Zentrale des Inst.f.Hyg. d. BfM

Tabelle 23

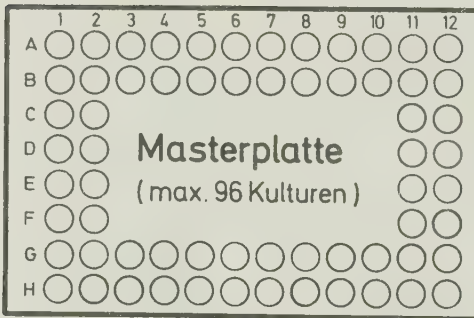
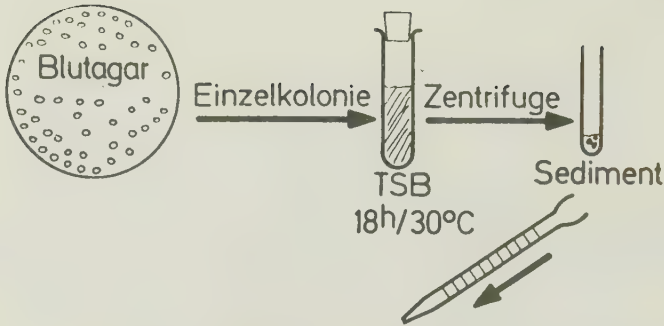
3.2 Methodik

3.2.1 Prüfung der Referenzstämmе im konventionellen Verfahren und im MPT-System

Die im Kap. 3.1.1 beschriebenen Referenzstämmе wurden mit konventionellen Verfahren und im MPT-System unter Berücksichtigung der verschiedenen Primärtests geprüft. Anzüchtung der Stämme und Durchführung der einzelnen Tests sollen anhand einer tabellarischen Darstellung gegenübergestellt werden. Einzelne Reaktionen des MPT-Systems sind aus den Abbildungen 4-9 ersichtlich.

Vergleichende Darstellung der Anzüchtung der Stämme und der Durchführung der Primärtests im konventionellen und im MPT-System		
	Konventionelle Verfahren	MPT-System
Anzüchtung	Trypticase-Soy-Bouillon (TSB ⁺⁾) 25° und 37° C/ 24 Stunden	TSB ^{+) , 30° C/ 18 Stunden zentrifugieren, je 200 µl in Masterplatte (MP) übertragen}
Gramverhalten und Morphologie	Gramfärbung ^{+)) aus TSB}	Simultane Übertragung von MP auf 4 Objekt- träger, Gramfärbung ^{+))}
Sporenbildung	MnSO ₄ -Agar ^{+)) 37° C/ 72-96 Stunden, Rakette- Färbung^{+))}}	Simultane Übertragung vom MnSO ₄ -Agar auf 4 Objektträger ^{+)) Rakette-Färbung^{+))}}
Hämolysе	Subkultur aus TSB auf Blutagar ^{+)) 25° und 37° C/ 24-48 Stunden}	Beurteilung auf Blut- agar ^{+)) (Vorkultur)}
Katalase-Test	Einzelkolonie von Blutagar, Objekt- träger-Test mit 30 µliger H ₂ O ₂ - Lösung	TS-Agar ^{+)) , Testtablett, Zugabe von 10 µliger H₂O₂-Lösung}
Oxydase-Test	Einzelkolonie von Blutagar, Patho- tec-CO-Test- streifen	Suspendieren der Kultur im Testtablett (TS-Agar, Mikromixer). Eintauchen von Patho-tec-CO-Streifen
Beweglichkeit	Stichkulturen aus TSB in Weichagar ^{+))}	Simultane Stichkultur in flex. PVC-Tabletts (Brain- Heart-Inf.-Agar ^{+)) , seilt. Betrachtung der ausgeschn. Streifen}
O/F-Test	HUGH-LEIFSON- Medium ^{+)) , aerob und anaerob (Pa- raffin-Überschich- tung) 25° und 37°C/ bis 8 Tage}	Simultane Stichkultur im HUGH-LEIFSON I (aerob) ^{+)) und HUGH-LEIFSON II^{+)) (anaerob, Paraffin-Über- schichtung)}}

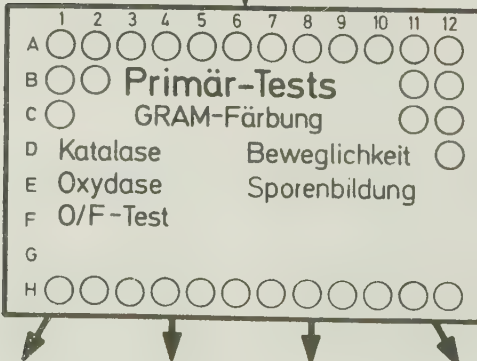
^{+))} Verweis auf Anhang



1 Stunde

Multi-Inokulator

1 Minute



25°/37°/48h

Familien-, Gattungs- bzw. Artdiagnose

75/238 W4

Abbildung 1

Gesamtuntersuchungsgang im MPT-System

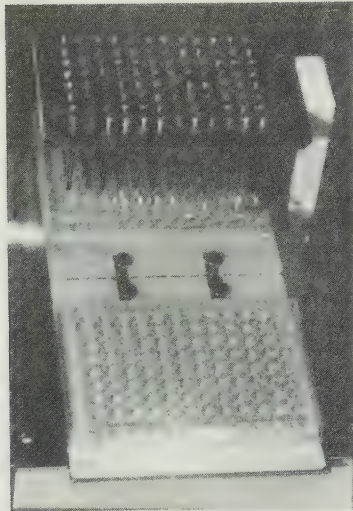


Abbildung 2

Vielpunkt-Beimpfungsgerät zur simultanen Inokulation
von Test-Tabletts aus einer Masterplatte

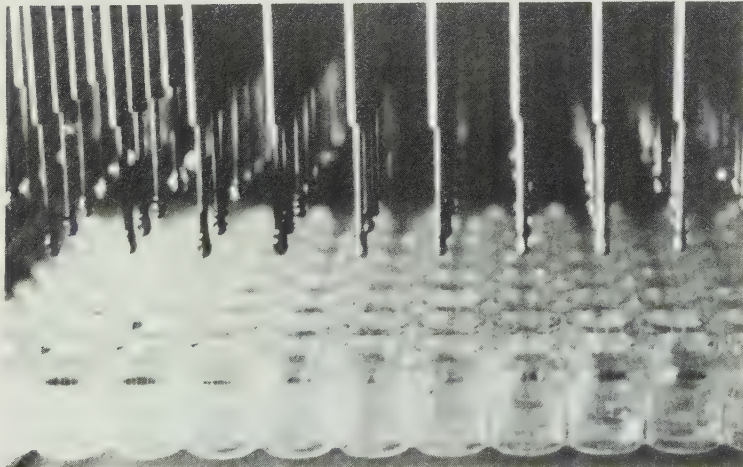


Abbildung 3

Beimpfungsnaedeln des Vielpunkt-Beimpfungsgerätes zum
Anlegen von Stichkulturen nach dem Eintauchen in die Masterplatte

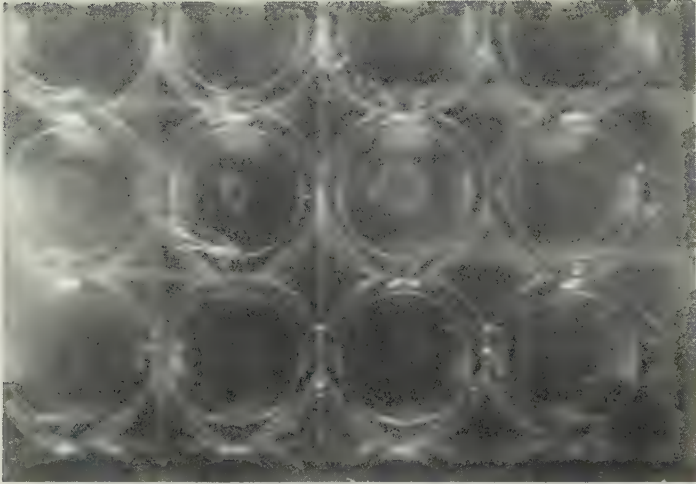


Abbildung 4

Durch das Vielpunkt-Beimpungsgerät simultan übertragene
Keimsuspensionen zur Durchführung der GRAM-Färbung
(Ausschnittvergrößerung)

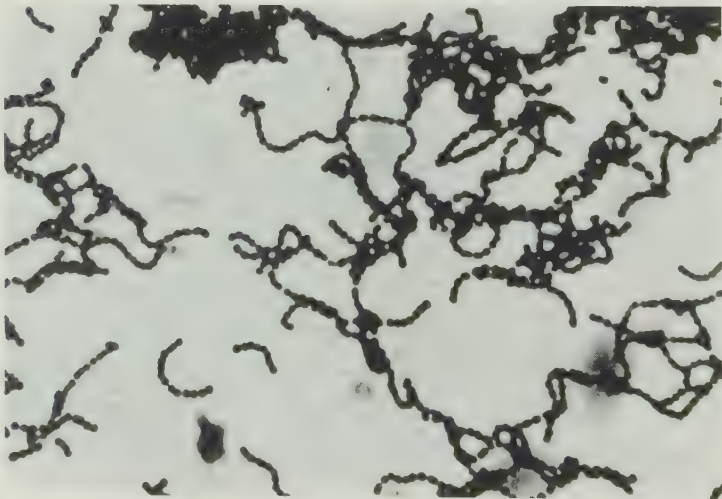


Abbildung 5

GRAM-Präparat (Streptokokken)

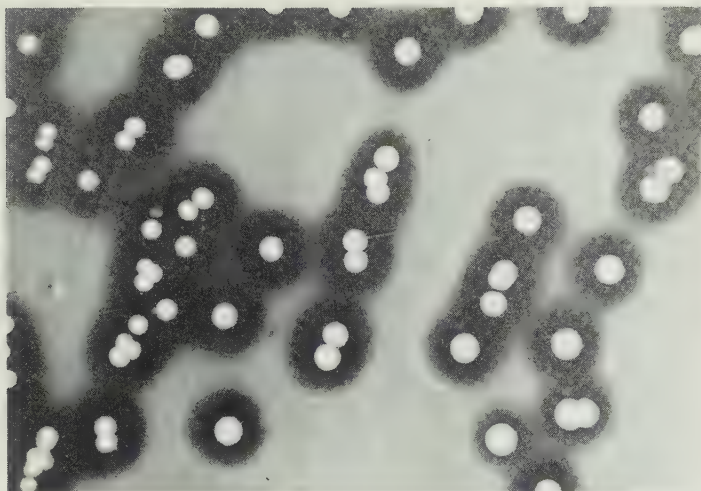


Abbildung 6
Hämolyse auf Hammelblutagar

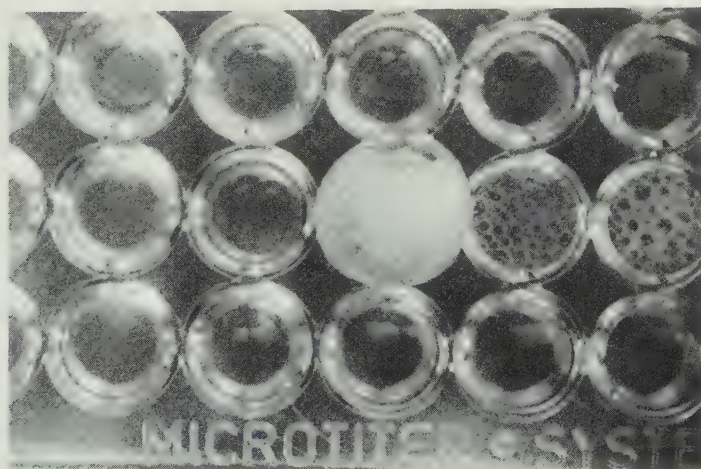


Abbildung 7
Katalase-Nachweis direkt nach Zugabe von H_2O_2



Abbildung 8

Cytochromoxydase-Nachweis durch Zugabe von
Patho-tec-Teststreifen

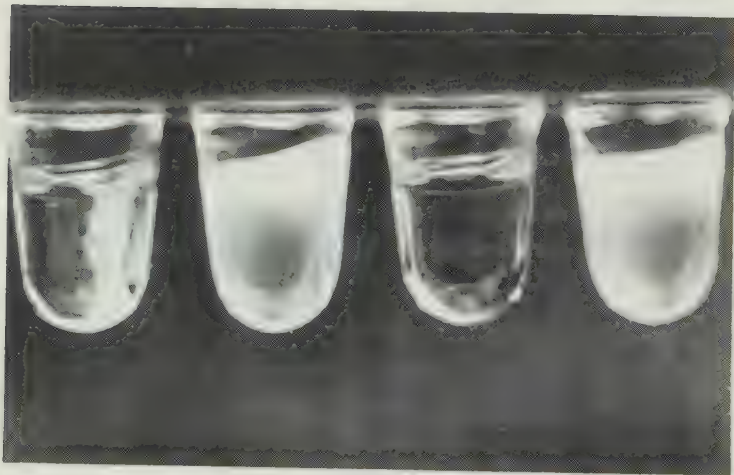


Abbildung 9

Wachstum beweglicher und unbeweglicher Stämme in aus
flexiblen PVC-Mikrotiter-Tabletts ausgeschnittenen Streifen

Während beim konventionellen Verfahren die Bebrütungszeit und -temperatur - entsprechend der Literaturangaben - für die einzelnen Tests unterschiedlich war, wurden im MPT-System alle Testtablets parallel bei 13 verschiedenen Inkubationsbedingungen (s. Tab. 24) geprüft. Der Ablauf des Untersuchungsganges im MPT-System geht aus Abbildung 1 hervor.

Der praktischen Versuchsdurchführung dienten folgende Geräte:

Mikrotiter-Tablets aus Polystyrol bzw. PVC zur Aufnahme der Masterkulturen bzw. Nährmedien (Firma GREINER, Nürtingen)
COOMBS-Spülgerät (Firma DYNATECH, Nürtingen) zur Abfüllung der Nährmedien

Vielpunkt-Beimpfungsautomat (DYNATECH, Nürtingen) zur Inokulation der Testtablets aus der Masterplatte (s. Abb. 2 u. 3).

Zusätzlich: Ablesespiegel, Mikromixer, Kleingeräte (Firma DYNATECH, Nürtingen).

E r l ä u t e r u n g e n z u m U n t e r s u c h u n g s - g a n g :

Präparation der Nährmedien-Tablets (Test-Tablets)

Abfüllung: 200 µl flüssiger Agar mit Hilfe des 12-Kanal-COOMBS-Spülgeräts. Ausschneiden von 12er Reihen der flexiblen Tablets für die Beweglichkeitsprüfung

Überschichtung: HUGH-LEIFSON-Medium II mit sterilem Paraffinöl

Aufbewahrung: 4° C nach Verschuß mit Adhäsions- oder Aluminiumfolie.

Präparation der Masterplatte

Inokulation: Einzelkolonie von Blutagar

Inkubation: Trypticase-Soy-Bouillon, 18 Stunden/30° C

Zentrifugieren: Resuspension des Sediments in 0,5 ml physiologischer NaCl-Lösung

Inokulation: Je 200 µl Kultur-Suspension in die Vertiefungen der Masterplatte

Präparation der Testtablets

- Überimpfung: Simultan durch Vielpunkt-Beimpfungsgerät
auf 4 nebeneinanderliegende Objektträger
für die Gramfärbung,
durch Oberflächenkultur für
Katalase-, Cytochromoxydase-Test
und für das Sporenmedium
durch Stichkultur für O/F-Test und
für Beweglichkeitsprüfung
- Verschließen: Klebefolie
- Perforieren: Für alle Tests außer Fermentations-Test

Inkubationsbedingungen

Zur Untersuchung der Abhängigkeit der Reaktionen von Temperatur und Zeit wurden sämtliche Versuche parallel bei folgenden Bedingungen durchgeführt (s. Tab. 24).

Temperatur-Zeit-Kombination bei der Prüfung der Primärreaktionen	
Temperatur	Zeit
12°C	24 ^h , 48 ^h , 72 ^h
18°C	24 ^h , 48 ^h , 72 ^h
25°C	24 ^h , 48 ^h , 72 ^h
30°C	24 ^h , 48 ^h
37°C	24 ^h , 48 ^h

Tabelle 24

3.2.2 Isolierung von Stämmen aus Milch und Milchprodukten

3.2.2.1 Aufbereitung des Probenmaterials

Soweit nach ausreichender Prüfung bestimmte Methoden zur Untersuchung und Präparation empfohlen wurden, sind diese einbezogen worden, so die Standardmethoden für:

Quark, sowie alle Käsesorten	Standardmethods for the examination of dairy products Kapitel 12
Butter	IDF-Standard 30/1964
Joghurt	IDF-Standard 65/1971
Trockenmilch und Säuglingsnahrung	IDF-Standard 64/1971
Eis	IDF-Standard 62/1971
Trinkmilch und Rohmilch	IDF-Standard 3/1958

Homogenisierung und Verdünnung

Mindestens 10 g Untersuchungsmaterial wurden mit der 9fachen Menge Verdünnungsmedium in einen Einwegbeutel verbracht und anschließend mit Hilfe eines Stomacher (Firma SEWARD, England) zerkleinert. Der gewünschte Homogenisierungsgrad wurde nach 1-5 Minuten erreicht.

Verdünnung des Originalmaterials oder Homogenats mit 1/4 starker RINGER-Lösung oder 2 %iger Natriumcitrat-Lösung.

3.2.2.2 Anreicherung und Identifizierung pathogener Keime mit Hilfe konventioneller Verfahren

Salmonellen-Nachweis

Probenmenge: 10 g bzw. 10 ml Originalmaterial
Reaktivierung: nicht selektives Medium⁺⁾
(100 ml), 37° C, 24 Stunden

⁺⁾ Verweis auf Anhang, siehe Seite 158-169

Anreicherung:	10 ml Vorkultur (Reaktivierung) in 100 ml Tetrathionat-Bouillon ⁺⁾ Vorinkubation 45° C/ 15 Minuten (Wasserbad) Inkubation: 37° C/ 18 - 48 Stunden
Subkultur:	Nach 18 und 48 Stunden auf Brillantgrün- Phenolrot-Laktose-Agar ⁺⁾ fraktioniert ausstreichen
Serologie:	Agglutination verdächtiger Kolonien mit polyvalentem Salmonella-Serum (BEHRING, Marburg)
Biochemie:	Prüfung verdächtiger Kolonien im API-20 E (Biologische Arbeitsgemeinschaft, Lich)

Nachweis β -hämolisierender Streptokokken

Probenmenge:	1 g bzw. 1 ml Originalmaterial oder Homogenat
Anreicherung:	Streptosel-broth ⁺⁾ (19 ml), 37° C/ 24 Stunden
Subkultur:	Bei Umschlag des Indikators Bromkresol- purpur fraktioniertes Ausstreichen auf Blutagar, 37° C/24 Stunden
Serologie:	Isolierung verdächtiger Kolonien, An- züchtung in TS-Bouillon ⁺⁾ , Extraktion des Antigens, Präzipitation

Nachweis koagulasepositiver Staphylokokken

Probenmenge:	1 g bzw. 1 ml Originalmaterial oder Homogenat
Anreicherung:	Kaliumtellurit-Bouillon ⁺⁾ (19 ml), 37° C/ 24 Stunden
Subkultur:	Bei Ausfall des schwarzen Tellurs fraktioniertes Ausstreichen auf BAIRD- PARKER-Agar ⁺⁾ und Blutagar ⁺⁾

⁺⁾ Verweis auf Anhang, siehe Seite 158-169

- Koagulasetest:** Überimpfung verdächtiger Kolonien in
TS-Bouillon, 37° C/ 18 Stunden
0,1 ml mit 0,5 ml Kaninchenplasma im
Röhrchen mischen und bei 37° C in-
kubieren (Wasserbad)
Ablesen nach 1, 2, 6, 8 und 24 Stunden
positiv: Gerinnung des Plasmas innerhalb
von 24 Stunden
- Anaerobe Mannit-
vergärung:** Stichbeimpfung des Mannit-Mediums⁺⁾
37° C/ 48 Stunden
positiv: Gelbfärbung des Mediums

Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa*

- Probenmenge:** 1 g bzw. 1 ml Originalmaterial oder
Homogenat
- Anreicherung:** Chinasäure-Medium nach KORTH⁺⁾
(100 ml), 37° C/ 7 Tage
- Subkultur:** Gelb-grün verfärbte Kulturen auf GMAC-
Schrägagar⁺⁾ ausstreichen,
42° C/ 48 Stunden (Wasserbad)
Prüfung der Kulturen, die das Medium
intensiv rot färben
- Identifizierung:** Hämolyse, typischer Geruch, positiver
Cytochromoxydase-Nachweis, Beweglich-
keit (evtl. Geißelfärbung), O/F-Test
(oxydativ), Pyocyaninbildung

Nachweis sulfitreduzierender Clostridien (Sporen)

- Probenmenge:** 1 g bzw. 1 ml Originalmaterial oder
Homogenat
- Selektion:** Indirekt durch Erhitzen des Proben-
materials auf 75° C (Wasserbad) für
30 Minuten

⁺⁾ Verweis auf Anhang, siehe Seite 158-169

Subkultur: Je 3 Röhrchen Sulfit-Eisen-Polymyxin-Bouillon⁺⁾
Bebrütung im Anaerobentopf 37° C/
72 Stunden
Von geschwärzten Röhrchen Subkulturen
auf Blutagar, 37° C/ 48 Stunden

Identifizierung: Grampositive Stäbchen, katalasenegativ,
Sporennachweis

3.2.2.3 Nachweis von Indikatororganismen mit Hilfe konventioneller Verfahren

Colititer

Probenmenge: 1,0 - 0,001 g bzw. ml des Originalmaterials entsprechend dem IDF-Standard 3/1958; 62/1971; 64/1971 und 65/1971

Inkubation: Dreifacher Ansatz je Konzentrationsstufe, 30° C/ 48 - 72 Stunden

Bewertung: Positiv: Mindestens erbsengroße Gasblase in zwei Röhrchen je Verdünnungsstufe

Quantitativer Nachweis von Enterokokken

Probenmenge: 5 x 0,2 ml, 0,1 ml und 0,01 ml des Originalmaterials bzw. Homogenats

Inkubation: SLANETZ-BARTLEY-Agar⁺⁾
2 Platten je Verdünnungsstufe,
44° C/ 48 Stunden

Bewertung: Anzahl der roten und rotbraunen Kolonien

^{+) Verweis auf Anhang, siehe Seite 158-169}

3.2.2.4 Bestimmung der Gesamtkeimzahl

Probenmenge:	1,0 bzw. 0,1 ml des Originalmaterials bzw. Homogenats in fortlaufenden Verdünnungsstufen (Doppelansatz)
Inkubation:	Plate-count-Agar, 30° C/ 72 Stunden
Bewertung:	Anzahl in Verdünnungsstufen, die zwischen 30 und 300 Kolonien makroskopisch erkennen lassen

3.2.2.5 MPT-System zur Floraanalyse

Inokulation:	1. Verdünnungsstufe 5 x 0,2 ml Originalmaterial bzw. Homogenat Weitere Verdünnungsstufen 0,1 ml Originalmaterial bzw. Homogenat (Doppelansatz)
Nährmedien:	Blutagar ⁺⁾
Inkubation:	30° C/ 48 Stunden,
Bewertung:	Keimzählung der Verdünnungsstufe, die 30 - 300 Kolonien makroskopisch erkennen ließ
Isolierung:	Entnahme von 20 Kolonien der obigen Verdünnungsstufe unter Verwendung einer Schablone (Aufteilung in Quadrate mit 1 cm Kantenlänge), zusätzlich alle hämolysierenden Kolonien
Subkultur:	TS-Bouillon 30° C/ 18 Stunden zentrifugieren, resuspendieren
Masterplatte:	Einfüllen von je 200 µl der Suspension in die Vertiefungen der Masterplatte
Primärtests:	Entspricht der Prüfung der Referenzstämmen: Anlegen von 2 Nährbodenserien 2 x TS-Agar ⁺⁾ 1 x Mangansulfatagar ⁺⁾ (Brain-heart-Infusion) 1 x HUGH-LEIFSON-Agar I ⁺⁾ und II ⁺⁾

⁺⁾ Verweis auf Anhang, siehe Seite 158-169

- Inkubation: 25° C/ 48 Stunden und 37° C/ 48 Stunden
- Bewertung: Entspricht der Beurteilung der Referenzstämme
- Sekundärtests: Wenn die Primärreaktionen zu nachstehenden Diagnosen führten, wurden weitere Prüfungen mit Hilfe von Sekundärtests vorgenommen:
1. Enterobacteriaceae
Identifizierung der Bakterien durch API-20 E
 2. β -hämolysierende aerobe Bacillaceen
Bacillus cereus-Prüfung⁺⁾
 3. β -hämolysierende Micrococcaceae
Staph. aureus-Prüfung⁺⁾
 4. β -hämolysierende Pseudomonadaceae
Ps. aeruginosa-Prüfung⁺⁾
 5. hämolysierende Streptococcaceae
Identifizierung der Bakterien durch die Streptokokkenzentrale

3.3 D a t e n v e r a r b e i t u n g

3.3.1 Auswertung der Primärtests (Referenzstämme)

Durch die Anzahl der Stämme, Parameter und Wiederholungen ergaben sich allein für die mit dem MPT-System durchgeführten Untersuchungen über 12 000 Datensätze, die aus folgenden frei kombinierbaren Faktoren resultieren:

94 Referenzstämme

10 Untersuchungen (unabhängige Wiederholungen)

5 Inkubationstemperaturen

3 (2) Inkubationszeiten

7 (8) Primärtest-Kriterien

} 13 Temperatur/Zeit-Kombinationen

⁺⁾ Verweis auf Anhang, siehe Seite 158-169

Essentielle Parameter zur Differenzierung von Bakterienstämmen (O, O)

	GRAM-Verhalten	Morphologie	Säurefestigkeit	Sporenbildung	Beweglichkeit	Hämolyse	Katalase	Oxydase	O/F-Test
Pseudomonas spp.	-	(St)	-	-	+	-	+	+	⊙
Ps. aeruginosa ⁺)	-	(St)	-	-	+	+	+	+	⊙
Aeromonas spp.	-	(St)	-	-	+/-	+/-	+	+	O/F, F
Enterobacteriaceae	-	(St)	-	-	+/-	+/-	+/-	-	O/F, F
Acinetobacter spp.	-	(St/K)	-	-	-	+/-	+	-	-, O
Flavobacterium spp.	-	(St/K)	-	-	-		+	+	⊙
Alcaligenes	-	(St/K)	-	-	+		+	+	-
Moraxella spp.	-	(St)	-	-	-	+/-	+	+	-
Neisseria spp.	-	(K)	-	-	-	+/-	+	+	⊙
Branhamella	-	(K)	-	-	-		+	+	-
Gemella	+	(K)	-	-	-	+	-	-	O/F, F
Streptococcaceae	+	(K)	-	-	+/-	+/-	-	-	O/F, F
Micrococcaceae	+	(K)	-	-	+/-	+/-	+	-	-, O, O/F, F
Bacillus spp.	+	(St)	-	+	+/-	+/-	+	+/-	-, O, O/F, F
Lactobacillus spp.	+	(St)	-	-	-	-	-	-	O/F, F
Kurthia	+	(St)	-	-	+	-	+	-	-
Listeria monocytogenes ⁺)	+	(St)	-	-	+	+	+	-	O/F, F
Listeria spp.	+	(St)	-	-	+	-	+	-	O/F, F
Erysipelothrix	+	(St)	-	-	-	-	-	-	⊙
Corynebact. pyogenes	+	(St)	-	-	-	+	-	-	O/F, F
Corynebact. equi	+	(St)	-	-	-	-	+	-	-
Corynebact. bovis									
Corynebact. hofmannii									
Corynebact. spp.	+	(St)	-	-	-		+	-	O/F, F
Brevibact. spp.									
Microbact. spp.									
Microbact. spp. oxydativ	+	(St)	-	-	-		+	-	⊙
Mycobact. spp.	+	(St)	+	-	-		+	-	
Nocardia	+	(St/M)	+	-	-		+	-	⊙

K = Kokken
St = Stäbchen
M = Mycelbildung

O = Oxydativer Glukoseabbau
F = Fermentativer Glukoseabbau
⁺) = Sekundärtests erforderlich

76/033 La

Die Registrierung von Material, Methoden und Befunden erfolgte zunächst in Vorprotokollen (s. Abb. 10), und anschließend in verschlüsselter Form in ablochkfähigen Protokollen (s. Abb. 11).

Die aus den Referenzstämmen gewonnene Information wurde in den Bestand einer für diese Untersuchungen eingerichteten Datenbank (EDV-Rechenanlage Siemens 4004/127 - Basisprogrammssystem SESAM) übernommen. Mit Hilfe dieser Datenbank ist es möglich, aus dem umfangreichen Datenmaterial sämtliche Zusammenhänge zwischen den Parametern auch vieldimensional abzufragen.

Zu Beginn der Auswertung wurden die Kriterien zusammengestellt, die unbedingt notwendig sind, um die Stämme einer Familie, einer Gattung bzw. Art zuordnen zu können (s. Tab. 25). Diese sind die obligatorischen Einzelkriterien. Grundlage der Diagnose ist jedoch die Kombination essentieller Parameter, wie sie in Tabelle 25 aufgeführt sind. Zur Auswertung wurde die Anzahl der folgenden Variablen aus den verschiedenen Dimensionsbereichen des Gesamtmaterials über die EDV ermittelt (Abb. 12).

Es muß darauf hingewiesen werden, daß die Dimensionen beliebig ausgetauscht werden können, so daß auch z. B. die Anzahl der gewachsenen Stämme (2. Dimension) bei einer bestimmten Inkubationsbedingung (4. Dimension) ohne Aufschlüsselung nach Bakteriengruppen errechnet werden kann. Rechnerisch wäre es möglich, nach dem gleichen Prinzip weitere Dimensionen, z. B. innerhalb einer Bakteriengruppe die Reaktion einzelner Arten und sogar Stämme sowie die Ergebnisse jedes einzelnen Untersuchungstages abzufragen. Für die Berechnung der Aussagekraft des Systems waren diese Daten jedoch nicht erforderlich.

[illegible]

Abbildung 10

[illegible]

Abbildung 11

Dimensionen			
1.	2.	3.	4.
Anzahl der Untersuchungen	Anzahl der gewachsenen Stämme	Bakteriengruppen	Inkubationsbedingungen
		Pseudomonas spp.	12° C / 24 ^h 12° C / 48 ^h 12° C / 72 ^h 18° C / 24 ^h 18° C / 48 ^h 37° C / 24 ^h 37° C / 48 ^h
		Ps. aeruginosa	12° C / 24 ^h 12° C / 48 ^h 12° C / 72 ^h 18° C / 24 ^h 18° C / 48 ^h 37° C / 24 ^h 37° C / 48 ^h
		Aeromonas spp.	12° C / 24 ^h 37° C / 48 ^h
		Enterobacteriaceae	12° C / 24 ^h

Anzahl auswertbarer Variabler aus verschiedenen Dimensionsebenen des Gesamtmaterials im M P T-System

[16 144 10]

Abbildung 12

Die Übereinstimmung zwischen konventionellem bzw. MPT-System zu Referenzwerten wurde ebenfalls für die in Abbildung 13 dargestellten Variablen auf verschiedenen Dimensionsebenen errechnet.

Dimensionen			
1.	2.	3.	4.
	Einzelreaktion	Bakteriengruppe	Inkubationsbedingungen
Primärtest - Kombination	Beweglichkeit	Pseudomonas spp.	12°C / 24 ^h
			12°C / 48 ^h
		Ps.aeruginosa	37°C / 24 ^h
			37°C / 48 ^h
	Katalase	Pseudomonas spp.	12°C / 24 ^h
			12°C / 48 ^h
		Ps.aeruginosa	37°C / 24 ^h
			37°C / 48 ^h
	Oxydase	Pseudomonas spp.	12°C / 24 ^h
			12°C / 48 ^h
		Ps.aeruginosa	37°C / 24 ^h
			37°C / 48 ^h

Auswertbare Variable aus verschiedenen Dimensionsebenen des Gesamtmaterials im M P T-System für die Errechnung der Übereinstimmungsgrade zu Referenzwerten

76/145La

Abbildung 13

Entsprechend dem in Abbildung 12 erläuterten Prinzip können auch hier die Dimensionen beliebig erweitert oder ausgetauscht werden. So war es möglich, den Übereinstimmungsgrad zwischen

der Primärtest-Kombination der Referenzwerte und deren aus dem MPT-System gewonnenen Ergebnissen der verschiedenen Taxa (species, genus, familia) bei unterschiedlichen Inkubationsbedingungen zu errechnen (s. Tab. 32). In gleicher Weise wird der Übereinstimmungsgrad zwischen den Einzelreaktionen bei verschiedenen Bebrütungsbedingungen über alle Taxa hinweg bestimmt.

3.3.2 Auswertung der Primärtests (Feldstämme)

Diese erfolgte in analoger Weise wie die der Referenzstämme (Protokoll, Abb. 11). Die Spalte "Materialkennung" wurde zur Kennzeichnung der Produkte genutzt. Erforderliche Sekundärtests und deren Ergebnisse wurden in die dafür vorgesehenen Spalten eingetragen, die Gesamtkeimzahl auf Blutagar in einem gesonderten Protokoll erfasst.

Die zuvor beschriebene Datenbank speicherte das gesamte Material, wodurch ein vieldimensionaler Auswertungsmodus möglich war. Kernpunkt der Floraanalyse waren die in Tabelle 25 aufgeführten obligatorischen Primärtest-Kombinationen: Die Resultate der Primärtests wurden mit den Referenzwerten verglichen und bei Übereinstimmung die Stämme einer Familie, Gattung bzw. Art zugeordnet.

Das Prinzip der vieldimensionalen Auswertung wird in Abbildung 14 veranschaulicht. Jede Spalte kann dabei zu jeder anderen in rechnerische Beziehung gesetzt werden. Z.B. kann die Anzahl der gewachsenen Stämme in einer Einzelprobe von Rohmilch oder die Anzahl der Pseudomonaden in dem Produkt "Sahne" bestimmt werden.

Für die Auswertung wurde die jeweilige Anzahl der folgenden Variablen aus den verschiedenen Dimensionsbereichen des Gesamtmaterials ermittelt (s. Abb. 14).

Dimensionen						
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Gesamtkeimzahl (Blutagar)	Isolierte Stämme	Gewachsene Stämme	Inkub. Beding.	Produktart	Probe	
			25°C/48 ^h	Rohmilch	1	Pseudomonas spp
					2	Ps aeruginosa
					3	Aeromonas spp
					4	Enterobacteriaceae
					5	nicht identifizierbare
					6	nicht identifizierbare
			37°C/48 ^h	Trinkmilch	1	Pseudomonas spp
					2	Ps aeruginosa
					3	Aeromonas spp
					4	Enterobacteriaceae
					5	nicht identifizierbare
					6	nicht identifizierbare
			37°C/48 ^h	Sahne	1	Pseudomonas spp
					2	Ps aeruginosa
					3	Aeromonas spp
					4	Enterobacteriaceae
					5	nicht identifizierbare
					6	nicht identifizierbare
			37°C/48 ^h	Rohmilch	1	Pseudomonas spp
					2	Ps aeruginosa
					3	Aeromonas spp
					4	Enterobacteriaceae
					5	nicht identifizierbare
					6	nicht identifizierbare
			37°C/48 ^h	Trinkmilch	1	Pseudomonas spp
					2	Ps aeruginosa
					3	Aeromonas spp
					4	Enterobacteriaceae
					5	nicht identifizierbare
					6	nicht identifizierbare
			37°C/48 ^h	Sahne	1	Pseudomonas spp
					2	Ps aeruginosa
					3	Aeromonas spp
					4	Enterobacteriaceae
					5	nicht identifizierbare
					6	nicht identifizierbare

Anzahl auswertbarer Variabler aus verschiedenen Dimensionsebenen des Gesamtmaterials im M P T-System unter Berücksichtigung der Produkte

76/146 a

Abbildung 14

Gesamtkeimzahl

Die Anzahl der vom Blutagar unter Verwendung eines Rasters (s. Kap. 3.2.2.5) entnommenen und identifizierten Kolonien wurde zu der auf diesem Medium ermittelten Gesamtkeimzahl in Relation gesetzt. Dieses ermöglicht eine grobe Einschätzung des Anteils eines Taxons an der Gesamtkeimpopulation.

Beispiel: (Rohmilch)

Keimzahl auf Blutagar	66	
Verdünnungsstufe	10^{-5}	
Gesamtkeimzahl/ml	$6,6 \times 10^6$	
isolierte Stämme	22	
gewachsene Stämme	21	= 100 %
davon		
Ps. aeruginosa	1	= 4,8 %
Enterobacteriaceae	8	= 38,1 %
Micrococcaceae	9	= 42,8 %
Coryneb. bovis	2	= 9,5 %
nicht identifiziert	1	= 4,8 %

d. h. 4,8 % der gewachsenen und damit untersuchten Stämme gehören zur species *Ps. aeruginosa*. Umgerechnet auf die tatsächliche Keimzahl von $6,6 \times 10^6$ entsprechen diese 4,8 % einer Anzahl von $3,2 \times 10^5$ *Ps. aeruginosa*. Sinngemäß werden die Anteile der übrigen Taxa einschließlich der nicht identifizierbaren Stämme "hochgerechnet".

Der besseren Übersicht wegen sind die Ergebnisse der Einzeluntersuchungen von 160 Proben mit bis zu 21 verschiedenen Taxa als Durchschnittswerte jedes einzelnen Produktes angegeben (s. Kap. 3.4.7). Die Werte sind - nach Produkten aufgeschlüsselt - zusammen mit den dazugehörigen Minimal- und Maximalwerten in den Tabellen 35 bis 47 wiedergegeben.

3.4 Ergebnisse

3.4.1 Pathogene Keime und Indikatororganismen

Salmonellen

konnten in keiner Probe des Untersuchungsmaterials nachgewiesen werden.

Pathogene Streptokokken

wurden lediglich in Rohmilch gefunden, so Streptococcus agalactiae in zwei Proben und Streptococcus uberis in einer Probe.

Koagulasepositive Staphylokokken

Von den insgesamt 160 Proben waren 11 Proben (= 6,9 %) positiv, und zwar 8 Rohmilch- und 2 Eisproben sowie eine Trockenmilchprobe.

Pseudomonas aeruginosa

4 Rohmilchproben sowie je eine Trinkmilch- und eine Eisprobe zeigten ein positives Ergebnis.

Sulfitreduzierende Clostridien (Sporen)

Tabelle 26 faßt die Ergebnisse zusammen.

Ergebnisse der Untersuchungen von Milch und Milchprodukten auf sulfitreduzierende Clostridien									
Produkt	Anzahl der Proben	1g bzw.ml negativ		1g bzw.ml positiv		0,1g bzw.ml positiv		0,01g bzw.ml positiv	
		Anz.	%	Anz.	%	Anz.	%	Anz.	%
Rohmilch	12	10	83,3	2	16,7				
Trinkmilch	12	12	100,0						
Schlagsahne	13	12	92,3	1	7,7				
Quark	12	11	91,7			1	8,3		
Weichkäse	12	10	83,3	1	8,3	1	8,3		
Schnittkäse	15	7	46,7	5	33,3	1	6,7	2	13,3
Hartkäse	12	9	75,0	1	8,3	1	8,3	1	8,3
Schmelzkäse	12	5	41,7	4	33,3	2	16,7	1	8,3
Butter	12	12	100,0						
Joghurt	12	12	100,0						
Säuglingsnahrung	12	10	83,3	1	8,3	1	8,3		
Trockenmilch	12	7	58,3	3	25,0	2	16,7		
Eis	12	12	100,0						

Tabelle 26

76/023 La

Schmelz- und Schnittkäse waren am häufigsten kontaminiert.

Coliforme Bakterien

Der Tabelle 27 ist zu entnehmen, daß Rohmilch und Weichkäse Höchstwerte hinsichtlich der Anzahl positiver Proben und der Höhe des Colititers aufwiesen. Alle Proben wurden nur bis zu 0,001 g bzw. ml austitriert, so daß bei positivem Ausfall dieser Verdünnungsstufe ein höheres Titerergebnis angenommen werden kann. Nur bei Butter, Joghurt und Trockenmilch konnten ausschließlich negative Befunde registriert werden.

Ergebnisse der Colititerbestimmung in Milch und Milchprodukten													
Produkt	Anzahl der Proben	1g bzw.ml negativ		1g bzw.ml positiv		0,1g bzw.ml negativ		0,1g bzw.ml positiv		0,01g bzw.ml positiv		0,001g bzw.ml positiv	
		Anz.	%	Anz.	%	Anz.	%	Anz.	%	Anz.	%	Anz.	%
Rohmilch	12											12	100,0
Trinkmilch	12	8	66,7	3	25,0			1	8,3				
Schlagsahne	13	7	53,9					2	15,4	1	7,7	3	23,1
Quark	12	11	91,7							1	8,3		
Weichkäse	12							1	8,3	1	8,3	10	83,3
Schnittkäse	15					6	40,0	4	26,7	2	13,3	3	20,0
Hartkäse	12					8	66,7	3	25,0	1	8,3		
Schmelzkäse	12					12	100,0						
Butter	12	12	100,0										
Joghurt	12	12	100,0										
Säuglings- nahrung	12	11	91,7					1	8,3				
Trockenmilch	12	12	100,0										
Eis	12	3	25,0					1	8,3	6	50,0	2	16,7

76/024 La

Tabelle 27

Enterokokken

Die geometrischen Mittelwerte sowie die Extremwerte sind in der Tabelle 28 dargestellt. Daraus geht hervor, daß die Kontamination der einzelnen Produkte recht unterschiedlich ist. Enterokokken konnten regelmäßig in allen Käsesorten nachgewiesen werden. Eine Speiseeisprobe wies einen Höchstwert von 10^8 Enterokokken/g auf.

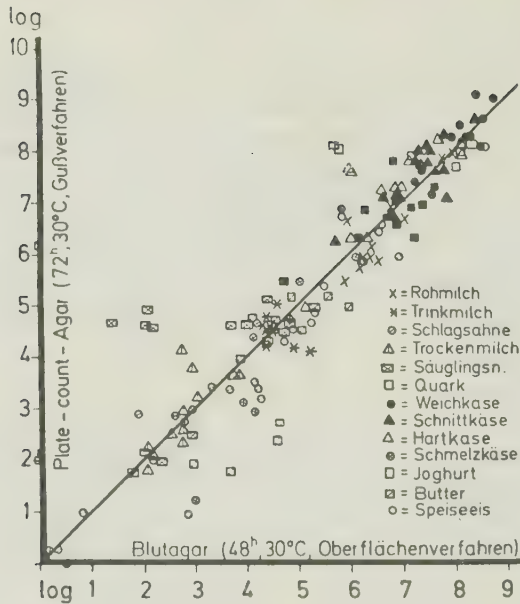
Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von Enterokokken in Milch und Milchprodukten				
Produkt	Anzahl positiver Proben	Keimzahl/g bzw. ml		
		Minimum	Maximum	$\bar{X}_g$
Rohmilch	12	$1,4 \cdot 10^4$	$2,4 \cdot 10^5$	$5,5 \cdot 10^4$
Trinkmilch	8	$1,0 \cdot 10^0$	$1,2 \cdot 10^2$	$9,8 \cdot 10^0$
Schlagsahne	0	-	-	-
Trockenmilch	10	$1,0 \cdot 10^1$	$3,0 \cdot 10^3$	$7,3 \cdot 10^1$
Säuglingsnahrung	4	$9,0 \cdot 10^1$	$6,0 \cdot 10^2$	$2,8 \cdot 10^2$
Quark	4	$1,0 \cdot 10^1$	$7,0 \cdot 10^1$	$1,6 \cdot 10^1$
Weichkäse	12	$2,3 \cdot 10^2$	$2,9 \cdot 10^6$	$2,3 \cdot 10^5$
Schnittkäse	14	$1,0 \cdot 10^1$	$9,9 \cdot 10^3$	$1,6 \cdot 10^2$
Hartkäse	12	$4,0 \cdot 10^2$	$1,5 \cdot 10^6$	$5,7 \cdot 10^4$
Schmelzkäse	1	$2,6 \cdot 10^3$	$2,6 \cdot 10^3$	$2,6 \cdot 10^3$
Joghurt	2	$1,0 \cdot 10^1$	$2,0 \cdot 10^1$	$1,4 \cdot 10^1$
Butter	3	$1,0 \cdot 10^1$	$1,0 \cdot 10^1$	$1,0 \cdot 10^1$
Speiseeis	12	$4,0 \cdot 10^1$	$1,0 \cdot 10^8$	$1,3 \cdot 10^4$

Tabelle 28

3.4.2 Vergleich der Keimzahlen auf Plate-count-Agar und Blutagar

Die Übereinstimmung beider Verfahren zur Keimzahlbestimmung von Mikroorganismen ist aus der Abbildung 15 ersichtlich.

Abgesehen von Joghurt und Säuglingsnahrung bewegen sich die Werte trotz unterschiedlicher Präparationstechnik, Nährmedien und Inkubationsbedingungen relativ eng entlang der Winkelhalbierenden. Bei Joghurt und Säuglingsnahrung dürfte vor allem das mikroaerophile Milieu der Gußplatten zu höheren Keimzahlen geführt haben, da in diesen Erzeugnissen Laktobazillen zur dominanten Flora gehören.



Vergleich von Keimzahlresultaten bei
Milch und Milchprodukten auf Blutagar und
in Plate-count-Agar.

Abbildung 15

In Tabelle 29 sind die geometrischen Mittelwerte der aus
Milch und Milchprodukten auf Blut- und Plate-count-Agar
festgestellten Keimzahlen einander gegenübergestellt.

Gegenüberstellung der geometrischen Mittelwerte von Keimzahlresultaten bei Milch und Milchprodukten auf Blutagar und in Plate-count-Agar					
Produkt	Keimzahl/ml bzw. g Plate-count-Agar		Produkt	Keimzahl/g Plate-count-Agar	
Rohmilch n = 12	4,1 · 10 ⁶	7,0 · 10 ⁶	Schnittkäse n = 15	4,3 · 10 ⁷	2,0 · 10 ⁷
Trinkmilch n = 12	5,0 · 10 ⁴	4,2 · 10 ⁴	Hartkäse n = 12	1,4 · 10 ⁷	5,7 · 10 ⁶
Schlagsahne n = 13	8,0 · 10 ²	6,7 · 10 ²	Schmelzkäse n = 12	7,1 · 10 ³	5,3 · 10 ³
Trockenmilch n = 12	9,6 · 10 ²	6,1 · 10 ²	Joghurt n = 12	7,4 · 10 ⁶	3,7 · 10 ⁵
Säuglings- nahrung n = 12	2,1 · 10 ⁴	1,5 · 10 ³	Butter n = 12	9,7 · 10 ⁴	1,8 · 10 ⁴
Quark n = 12	5,4 · 10 ⁶	4,6 · 10 ⁶	Speiseeis n = 12	1,0 · 10 ⁵	2,0 · 10 ⁵
Weichkäse n = 12	1,3 · 10 ⁸	7,4 · 10 ⁷			

Die Unterschiede zwischen beiden Medien sind in keinem Falle größer als eine Zehnerpotenz. Der geometrische Mittelwert des Gesamtmaterials ist bei Anwendung des Blutagars $1,6 \cdot 10^5$ /ml bzw. g und bei Anwendung des Plate-count-Agars $3,4 \cdot 10^5$ /ml bzw. g.

3.4.3 Vergleich der Primärtests im konventionellen und im MPT-System (Referenzstämme)

Als Referenz-Werte gelten die in BERGEY's Manual (1974) festgelegten Angaben und - soweit dort keine Primärtest-Befunde aufgeführt sind - solche aus "Identification of medical bacteria" (COWAN u. STEEL, 1974).

Auch konventionelle Tests können bei der routinemäßigen Durchführung - in Abhängigkeit von Nährmedien, Reagenzien usw. - unterschiedliche Ergebnisse zeigen. Dieser Unsicherheit wegen werden das konventionelle und das MPT-System nicht direkt, sondern - wie aus folgendem Beispiel hervorgeht - indirekt über die Referenzwerte verglichen:

Beispiel:

Prozentuale Übereinstimmung zwischen Referenzwerten und konventionellem System = 89,7 %

Prozentuale Übereinstimmung zwischen Referenzwerten und MPT-System = 84,3 %

Setzt man die Ergebnisse des konventionellen Systems = 100 %, so ergibt sich eine rechnerische Übereinstimmung des MPT-Systems zum konventionellen System von 94,0 %.

Durch diesen Modus wird eine mögliche Unzulänglichkeit des konventionellen Systems rechnerisch eliminiert.

Für die sachgerechte Interpretation der nachfolgenden Tabellen und Abbildungen muß zudem berücksichtigt werden, daß die konventionellen Tests nur bei den im Schrifttum vorgesehenen Inkubationsbedingungen, die Mikrotests dagegen bei 13 Zeit-Temperatur-Kombinationen durchgeführt wurden.

3.4.4 Vergleich des konventionellen Systems mit Referenzwerten

Prozentuale Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen der Primärtests nach konventioneller Methode und den dazugehörigen Referenzwerten							
Primärtests Bakterien- gruppe	Einzelreaktionen					Primärtest-Kombination	
	Sporen- bildung	Beweg- lichkeit	Katalase	Oxydase	O/F-Test	Simultane Überein- stimmung	Arith- metischer Mittel- wert
<i>Ps. aeruginosa</i>	--	55,7	--	100,0	100,0	66,7	88,9
<i>Pseudomonas</i> spp.	--	0,0	--	100,0	96,2	0,0	65,4
<i>Aeromonas</i> spp.	--	--	--	100,0	40,0	40,0	70,0
<i>Streptococcus</i> spp.	--	--	96,2	--	--	96,2	96,2
<i>Bacillus</i> spp.	100,0	--	100,0	--	--	100,0	100,0
Enterobacte- riaceae	--	--	--	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>Microbacterium</i> spp.	100,0	50,0	100,0	--	100,0	50,0	87,5
Micrococcaceae	--	--	100,0	--	--	100,0	100,0
<i>Listeria monocytogenes</i>	100,0	0,0	100,0	--	100,0	0,0	75,0
<i>Corynebacterium renale</i>	100,0	100,0	100,0	--	100,0	100,0	100,0
-- = zur Diagnose nicht herangezogen							

76/025 La

Tabelle 30

Bei den Stämmen der Gattung *Pseudomonas* liegt das unbefriedigende Ergebnis des Beweglichkeitstests vor allem an der unsicheren Bewertung durch das stoffwechselbedingte Oberflächenwachstum dieser Keime. Von den zwei Referenzstämmen der Gattung *Microbacterium* war ein Stamm regelmäßig beweglich, so daß nur eine 50 %ige Übereinstimmung zu dem geforderten Kriterium bestehen kann. Ein *Aeromonas*-Stamm baute Glukose nur oxydativ ab.

Tabelle 30 zeigt die prozentuale Übereinstimmung der Primärtest-Einzelreaktionen sowie der obligatorischen Primärtest-Kombinationen, einerseits ausgedrückt durch den Prozentsatz

der in allen Tests übereinstimmenden Stämme, andererseits durch das arithmetische Mittel der Einzelreaktionen.

Anhand der Tabelle 30 sollen diese beiden grundsätzlichen Berechnungsarten erläutert werden:

Das arithmetische Mittel gibt zwar einen Hinweis für die diagnostische Sicherheit eines Systems, impliziert jedoch für die Diagnostik einer Gattung u. ä. die Möglichkeit einer Fehlbeurteilung in weit größerem Maße als die Berechnung der geforderten Übereinstimmung aller Kriterien für jeden einzelnen Stamm.

Ein Beispiel soll dies veranschaulichen:

Aus Tabelle 30 geht hervor, daß die Beweglichkeitsprüfung im konventionellen System in keinem Fall dem Referenzwert entspricht. Daraus ergibt sich eine Übereinstimmung zwischen beiden von 0,0 %. Dagegen ist die Übereinstimmung beim Oxydase-Test 100 % und bei O/F-Test 96,2 %. Im arithmetischen Mittel beträgt die errechnete Übereinstimmung über alle in sich unabhängigen Kriterien hinweg 65,4 %. In der Tat entspricht aber aufgrund des negativen Beweglichkeitstests kein einziges Untersuchungsergebnis der geforderten Primärtest-Kombination. Somit wird die tatsächliche Übereinstimmung entscheidend durch den Primärtest beeinflusst, der bei isolierter Betrachtung die geringste Übereinstimmung zeigt, d. h., dem schwächsten Glied in der diagnostischen Kette.

Dieses findet seinen Ausdruck in der Spalte "Primärtest-Kombination, simultane Übereinstimmung", deren Werte sich durch individuelle Abfrage auf Übereinstimmung mit der geforderten Primärtest-Kombination jeder einzelnen Untersuchung ergeben. D. h. die Übereinstimmung wird nur dann positiv gewertet, wenn im Einzelfall alle Primärtest-Kriterien der geforderten Kombination entsprechen.

Dieses Verfahren ergibt naturgemäß geringere Übereinstimmungsgrade, wird jedoch den Ansprüchen einer objektiven Beurteilung besser gerecht.

3.4.5 Vergleich des MPT-Systems mit den Referenzwerten

Die prozentualen Übereinstimmungen der Ergebnisse der Einzelreaktionen im MPT-System mit den Referenzwerten sind für die verschiedenen Bakterientaxa in Abhängigkeit von unterschiedlichen Inkubationsbedingungen nicht gesondert aufgeführt.

In den Tabellen 31 und 32 ist diese Information verdichtet, und zwar sind in Tabelle 31 die arithmetischen Mittelwerte und in Tabelle 32 die simultane Übereinstimmung aller für die Identifizierung notwendigen Primärtest-Einzelreaktionen angegeben. Auch hier wird der Unterschied zwischen beiden Bewertungsprinzipien deutlich (s. Kap. 3.4.3).

Arithmetische Mittelwerte der prozentualen Übereinstimmung von Referenzwerten der Literatur und Mikrottest in Abhängigkeit von unterschiedlichen Zeit-Temperatur-Kombinationen											
Inkubations- bedingungen Bakterien- gruppen	12°C/24 h	12°C/48 h	12°C/72 h	18°C/24 h	18°C/48 h	18°C/72 h	25°C/24 h	25°C/48 h	25°C/72 h	30°C/24 h	30°C/48 h
<i>Ps.aeruginosa</i>	13,9	33,9	71,1	13,3	30,6	75,6	86,1	85,5	95,0	77,2	86,7
<i>Pseudomonas</i> spp.	81,1	89,2	91,5	69,5	90,1	93,8	87,4	80,1	88,7	82,0	83,5
<i>Aeromonas</i> spp.	35,2	44,1	43,6	18,3	36,5	36,2	50,0	54,3	68,7	38,9	58,9
<i>Streptococcus</i> spp.	99,4	98,4	99,0	100,0	98,9	98,5	97,7	99,2	98,8	95,5	90,4
<i>Bacillus</i> spp.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	67,3	80,9
Enterobacteriaceae	71,7	92,7	99,0	55,1	90,8	80,0	97,0	100,0	97,0	99,0	100,0
<i>Microbacterium</i>	66,7	66,7	66,7	65,0	66,7	64,8	61,7	63,3	63,3	66,7	65,0
Micrococcaceae	80,4	89,7	96,5	91,7	92,4	91,2	95,0	95,0	96,7	98,3	100,0
<i>Listeria</i>	30,0	43,3	60,0	29,6	36,7	53,5	66,7	73,3	90,0	53,3	66,7
<i>Corynebacterium</i>	66,7	53,3	66,7	66,7	66,7	62,5	70,4	77,8	80,0	73,3	90,0
Total $\bar{x}_A$	60,6	67,9	77,1	56,6	67,7	72,9	79,1	83,1	86,5	75,2	82,2

- = Test nicht durchgeführt

76/034 Gg

Tabelle 31

Übereinstimmung (in %) von Referenzwerten der Literatur und Mikrotest in Abhängigkeit von unterschiedlichen Zeit-Temperatur-Kombinationen																																																						
Inkubation- bedingungen Bakterien- gruppen	12°C/24 ^h			12°C/48 ^h			12°C/72 ^h			18°C/24 ^h			18°C/48 ^h			18°C/72 ^h			25°C/24 ^h			25°C/48 ^h			25°C/72 ^h			30°C/24 ^h			30°C/48 ^h			37°C/24 ^h			37°C/48 ^h																	
Ps. aeruginosa	0,0	1,7	33,3				1,7	1,7	50,0	71,7	90,0	90,0	41,7	60,0	66,7	70,0																																						
Pseudomonas spp.	62,7	78,5	79,6				41,2	76,9	83,5	70,0	70,8	76,2	58,1	58,1	12,5	20,8																																						
Aeromonas spp.	3,7	11,8	10,3				0,0	8,1	12,8	25,0	28,3	45,8	17,8	44,4	16,7	34,7																																						
Streptococcus spp.	99,4	98,5	99,0				100,0	98,9	98,5	97,7	99,2	98,8	95,5	90,4	95,1	87,2																																						
Bacillus spp.	-	-	-				-	-	-	-	-	-	-	-	-	-																																						
Enterobacteriaceae	43,5	85,4	94,0				10,3	81,6	90,0	94,0	100,0	94,0	98,0	100,0	94,0	94,0																																						
Microbacterium	0,0	0,0	15,0				0,0	0,0	5,3	15,0	35,0	35,0	35,0	40,0	30,0	30,0																																						
Micrococcaceae	80,4	89,7	96,6				91,7	92,5	91,2	95,0	95,0	96,7	98,3	100,0	98,3	100,0																																						
Listeria	0,0	0,0	0,0				0,0	0,0	20,0	0,0	20,0	70,0	0,0	10,0	0,0	10,0																																						
Corynebacterium	0,0	0,0	0,0				0,0	0,0	0,0	11,1	33,3	40,0	20,0	60,0	90,0	90,0																																						
- = Test nicht durchgeführt																																																						

- = Test nicht durchgeführt

76/027 Lg

Tabelle 32

Aus der Darstellung wird - mit Ausnahme der Streptokokken und Mikrokokken - der überragende Einfluß der Inkubationsbedingungen deutlich. Dieser ist bei den Corynebakterien und Mikrobakterien überwiegend auf die Temperatur, bei Pseudomonaden, Aeromonaden und Enterobacteriaceen hauptsächlich auf die Inkubationsdauer (Generationszeit) zurückzuführen.

Sicherheit des MPT-Systems

Berechnet man den maximal erreichbaren Übereinstimmungsgrad der Ergebnisse des MPT-Systems mit den Referenzwerten, so erhält man eine Aussage über die mögliche diagnostische Sicherheit dieses Systems (Tabelle 33).

Optimale Übereinstimmung zwischen Referenzwerten und Ergebnissen der Mikrotests, unabhängig von Inkubationszeit und -temperatur					
Primär- tests Bakterien- gruppen	Sporenbildung	Beweglichkeit	Katalase	Oxydase	O/F-Test
Ps.aeruginosa	--	98,3	--	100,0	91,7
Pseudomonas spp.	--	96,5	--	92,3	92,3
Aeromonas spp.	--	--	--	79,2	58,3
Streptococcus spp.	--	--	100,0	--	--
Bacillus spp.	78,6	--	97,5	--	--
Enterobacteriaceae	--	--	--	100,0	100,0
Microbacterium	100,0	100,0	100,0	--	50,0
Micrococcaceae	--	--	100,0	--	--
Listeria	100,0	70,0	100,0	--	100,0
Corynebacterium	100,0	100,0	100,0	--	90,0

-- = zur Diagnose nicht herangezogen

76/022 La

Tabelle 33

Der mäßige Übereinstimmungsgrad bei Aeromonaden und Mikrobakterien beim O/F-Test beruht darauf, daß einer der fünf verwendeten Aeromonaden-Stämme - auch im konventionellen Test - bzw. einer der beiden Mikrobakterien-Stämme regelmäßig nur oxydatives Wachstum aufwies.

Für die Sporenbildung bei Bazillen liegt die Ursache der unbefriedigenden Ergebnisse darin, daß die verwendete Inkubationszeit bei einigen Arten für eine Sporenbildung nicht ausreichte.

An 3 von 10 Untersuchungstagen wuchs der untersuchte Listerien-Stamm so mäßig, daß eine Beweglichkeit nur in 70 % der Untersuchungen festgestellt werden konnte.

Insgesamt gesehen zeigt die Zusammenstellung, daß für jeden der einzelnen Tests ein Übereinstimmungsgrad von 100 % erreicht werden kann. Das bedeutet, daß die Laboratoriums-

technik des MPT-Systems einwandfrei ist und Abweichungen von Referenzwerten auf Eigenarten der Stämme zurückzuführen sind.

Praktikabilität des MPT-Systems

Einer der entscheidenden Vorteile des MPT-Systems ist es, ohne erheblichen Mehraufwand an Arbeitszeit und Material mehrere Untersuchungen parallel durchführen zu können, da die Subkultivierung der Kulturen von der Masterplatte auf die gewünschten Testmedien nur wenige Minuten in Anspruch nimmt. Dieses ermöglicht die gleichzeitige Bebrütung der Test-Tabletts z. B. bei verschiedenen Inkubationszeiten oder unter aeroben, mikroaerophilen und anaeroben Verhältnissen. Tabelle 34 zeigt - unabhängig von den untersuchten Bakterien-
gruppen - den von Inkubationsbedingungen abhängigen Übereinstimmungsgrad des MPT-Systems zu den Referenzwerten für die einzelnen Kriterien. Daraus ist zu ersehen, daß unter Praxisbedingungen für die Sporenbildung 37° C/48 Stunden, für den Nachweis der Beweglichkeit, der Katalase- und Oxydase-Bildung sowie für die Beurteilung des O/F-Tests eine Inkubation der Test-Tabletts bei 25° C/ 72 Stunden die besten Resultate erbringt.

Durch Mitführen von Referenzstämmen auf jedem Tablett können zusätzlich die für die jeweilige Art benötigten optimalen Bedingungen kontrolliert werden.

Übereinstimmung (in %) von Primärtests in Abhängigkeit von unterschiedlichen Zeit-Temperatur-Kombinationen ohne Be- rücksichtigung der einzelnen Gattungen					
Primär- tests Inkuba- tionsbe- dingungen	Sporenbildung	Beweglichkeit	Katalase	Oxydase	O/F-Test
12°C/24 ^h	-	54,7	84,7	74,3	22,7
12°C/48 ^h	-	66,1	92,9	76,7	38,3
12°C/72 ^h	-	75,1	96,5	79,9	53,9
18°C/24 ^h	-	51,7	89,7	69,5	12,8
18°C/48 ^h	-	62,9	93,1	79,8	30,3
18°C/72 ^h	-	75,3	91,7	84,6	46,3
25°C/24 ^h	-	69,3	96,7	86,2	61,5
25°C/48 ^h	-	63,0	96,4	88,5	72,0
25°C/72 ^h	-	81,3	97,2	92,0	75,1
30°C/24 ^h	87,0	63,5	92,1	81,6	62,0
30°C/48 ^h	91,0	62,9	97,6	88,2	75,4
37°C/24 ^h	91,9	50,7	95,6	77,5	70,9
37°C/48 ^h	94,7	55,3	96,6	82,0	74,9

- = Test nicht durchgeführt

76/026 Lg

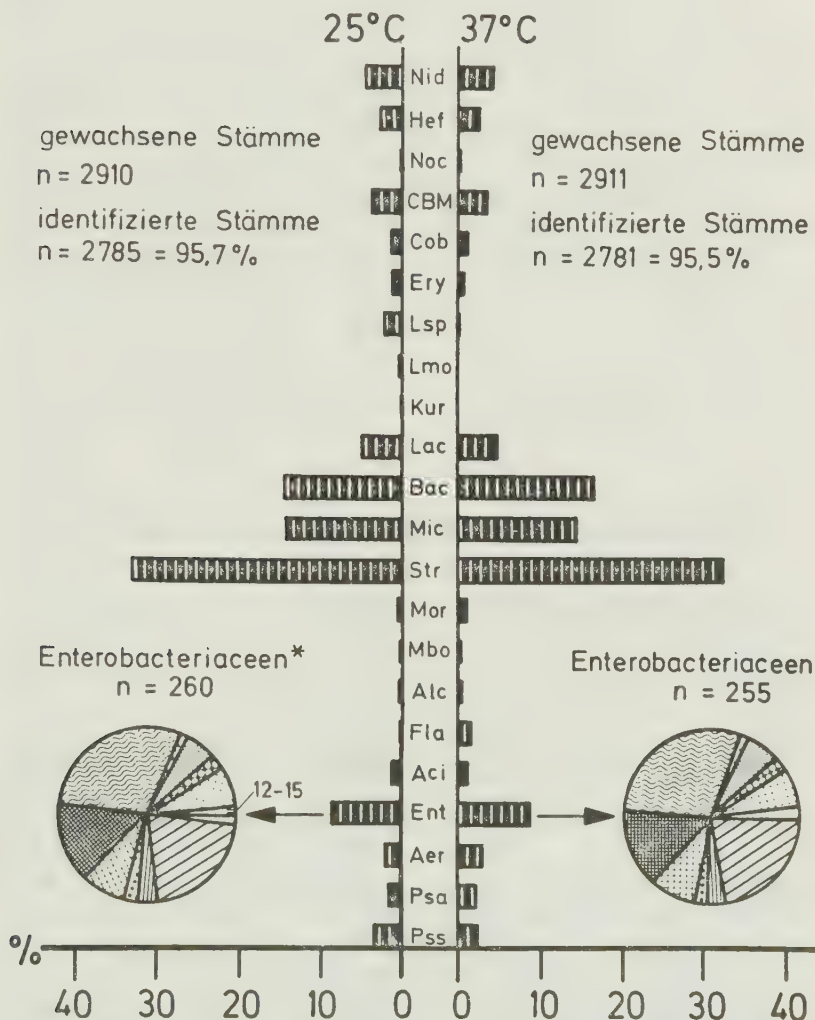
Tabelle 34

3.4.6 Primärtests im MPT-System - Feldstämme

Insgesamt wurden aus 160 Proben von Milch und Milchprodukten 2911 Stämme geprüft und davon 2785 (= 95,7 %) identifiziert. Abgegrenzt wurden 125 Stämme, die keiner Referenzwertkombination entsprachen. Auch die isolierten 179 Hefen sind nicht näher identifiziert worden.

Die Abbildung 16 veranschaulicht die aus dem Gesamtmaterial - über alle Produkte hinweg - identifizierten Stämme und zwar vergleichend nach einer Inkubation der Testtablets von 48 Stunden bei 25° C und 37° C. Da mit Hilfe des MPT-Systems Enterobacteriaceen nur bis zur Familie bestimmt werden können, sind für diese Familie auch die Ergebnisse

der Sekundärtests des API-20 E-Systems aufgeführt, das eine Identifizierung bis zu 23 species und 4 Gattungen erlaubt.



Vergleich der Differenzierungsergebnisse (in%)
von aus Milch und Milchprodukten isolierten
Stämmen in Abhängigkeit von der Bebrütungs-
temperatur

76/001 Lo

* und andere gramnegative Bakterien

Erläuterungen der in den Abb.16-29 verwendeten Symbole

Pss = Pseudomonas spp.	Lac = Lactobacillus spp.
Psa = Pseudomonas aeruginosa	Kur = Kurthia
Aer = Aeromonas spp.	Lmo = Listeria monocytogenes
Ent = Enterobacteriaceae	Lsp = Listeria spp.
Aci = Acinetobacter	Ery = Erysipelothrix
Fla = Flavobacterium spp.	Cob = Corynebacterium bovis, equi, hofmannii
Alc = Alcaligenes spp.	CBM = Corynebacterium spp. Brevibacterium spp. Microbacterium spp.
Mbo = Microbacterium spp., oxydativ	Noc = Nocardia
Mor = Moraxella spp.	Hef = Hefen
Str = Streptococcaceae	Nid = nicht identifizierte Stämme
Mic = Micrococcaceae	
Bac = Bacillus spp.	

Enterobacteriaceae und andere gramnegative Bakterien

1  = Escherichia coli	9  = Klebsiella pneumoniae
2  = Enterobacter aerogenes	10  = Proteus vulgaris
3  = Enterobacter agglomerans	11  = Proteus alcalifaciens
4  = Enterobacter cloacae	12  = Yersinia enterocolitica
5  = Enterobacter hafniae	13  = Acinetobacter
6  = Serratia liquefaciens	14  = Pectobacterium
7  = Serratia marcescens	15  = Aeromonas
8  = Citrobacter freundii	

In Milch und Milchprodukten dominieren generell Streptokokken, gefolgt von Bazillen und Mikrokokken. Die zahlreichen anderen Gattungen folgen mit einem Anteil von weniger als 10 %.

Einfluß der Inkubationstemperatur

Die Anzahl der bei 25° C und 37° C identifizierten Stämme ist praktisch gleich, jedoch ist eine gewisse temperaturbedingte Verschiebung innerhalb des prozentualen Keimspektrums zu verzeichnen. So ist der Anteil der Pseudomonaden bei 37° C geringer als bei 25° C. Dieses ist auf ein bei 37° C häufiger negatives Ergebnis des Beweglichkeitstests zurückzuführen. Unbewegliche Pseudomonaden-Stämme werden nach dem Identifizierungsprinzip zwangsläufig den Flavobakterien zugeordnet, so daß deren Anteil bei 37° C höher wird.

Bei einigen Aeromonaden-Stämmen war die Cytochromoxydase nur bei 37° C feststellbar. Die bei 25° C Cytochromoxydase-negativen Stämme werden dann systembedingt den Enterobacteriaceen zugerechnet.

Die Einordnung einiger Stämme in die Gruppe Moraxella ist umstritten, zumal die taxonomischen Grundlagen der Moraxella-Acinetobacter-Achromobacter-Bordetella-Gruppe noch unbefriedigend sind. Da die Stämme sowohl im MPT-System als auch im konventionellen Verfahren gleiche Primärreaktionen aufwiesen, der Geißelnachweis negativ verlief und auch durch das API-20-E-System die Diagnose Moraxella spp. bestätigt wurde, mußte diese Diagnose bestehen bleiben.

Bei einer Inkubationstemperatur von 25° C konnte bei einzelnen Mikrokokken-Stämmen keine Katalase nachgewiesen werden. Unter diesen Umständen müssen sie - in Unkenntnis ihres Verhaltens bei 37° C - den Streptokokken zugerechnet werden. Die Versporung der Bazillen war bei 25° C oft geringer als bei 37° C. Fehlte diese Eigenschaft, so entsprachen die anderen Kriterien denen der Listerien.

Laktobazillen konnten zwar häufig identifiziert werden, einige Stämme waren aber gegenüber Natriumthioglykolat empfindlich und bauten deshalb Glukose nur oxydativ ab. Dieses ist in Verbindung mit den anderen Kriterien bestimmend für Erysipelothrix.

Bei der Analyse der nicht identifizierten Stämme (insgesamt 4,3 %) kristallisierten sich drei Hauptgruppen heraus:

1. Grampositive, unbewegliche, nicht sporenbildende Stäbchen, die keine Katalase und Cytochromoxydase bilden und Glukose nicht spalten. Diese waren fast ausschließlich Laktobazillen, deren Wachstum im MPT-System so spärlich war, daß ihre Stoffwechselaktivität nicht zum Ausdruck kam.
2. Aerobe Sporenbildner, deren Katalasebildung nicht feststellbar war.
3. Ein Konglomerat grampositiver und gramnegativer Bakterien, die in einem oder mehreren Primärtests fragliche Ergebnisse aufwiesen.

3.4.7 Floraanalyse aus Milch und Milchprodukten im MPT-System Mit dem vorstehend beschriebenen Instrumentarium

- der Anreicherung und selektiven Anzüchtung pathogener Keime in konventioneller Weise,
- der selektiven Anzüchtung von Indikatororganismen,
- der Bestimmung der Gesamtkeimzahl auf Blutagar,
- dem Anlegen einer Reinkultur in der Masterplatte und
- der automatischen Beimpfung der Primärtest-Medien und deren Inkubation bei 25° und 37° C für 48 Stunden

waren die Voraussetzungen gegeben, mit vertretbarem Aufwand an Milch und Milchprodukten eine systematische Floraanalyse durchzuführen.

Nach einer Gegenüberstellung der im konventionellen Verfahren und im MPT-System isolierten pathogenen Keimen, wird das umfangreiche Datenmaterial - nach Produkten geordnet und unter Berücksichtigung der beiden Inkubationstemperaturen - in den Abbildungen 17-29 verdichtet.

Der Anteil der Bakteriengenera und in Einzelfällen auch -familiae und -species ist prozentual angegeben.

Wegen der besonderen hygienischen Bedeutung ist die Familie der Enterobacteriaceen durch Sekundärtests im API-20 E-System bis zur species diagnostiziert worden (s. Kreisdiagramm).

Die aus den Abbildungen hervorgehende Information wird durch Tabellen ergänzt, aus denen die aus positiven Proben errechnete Keimzahl des betreffenden Taxons sowie das dazugehörige Minimum und Maximum hervorgeht.

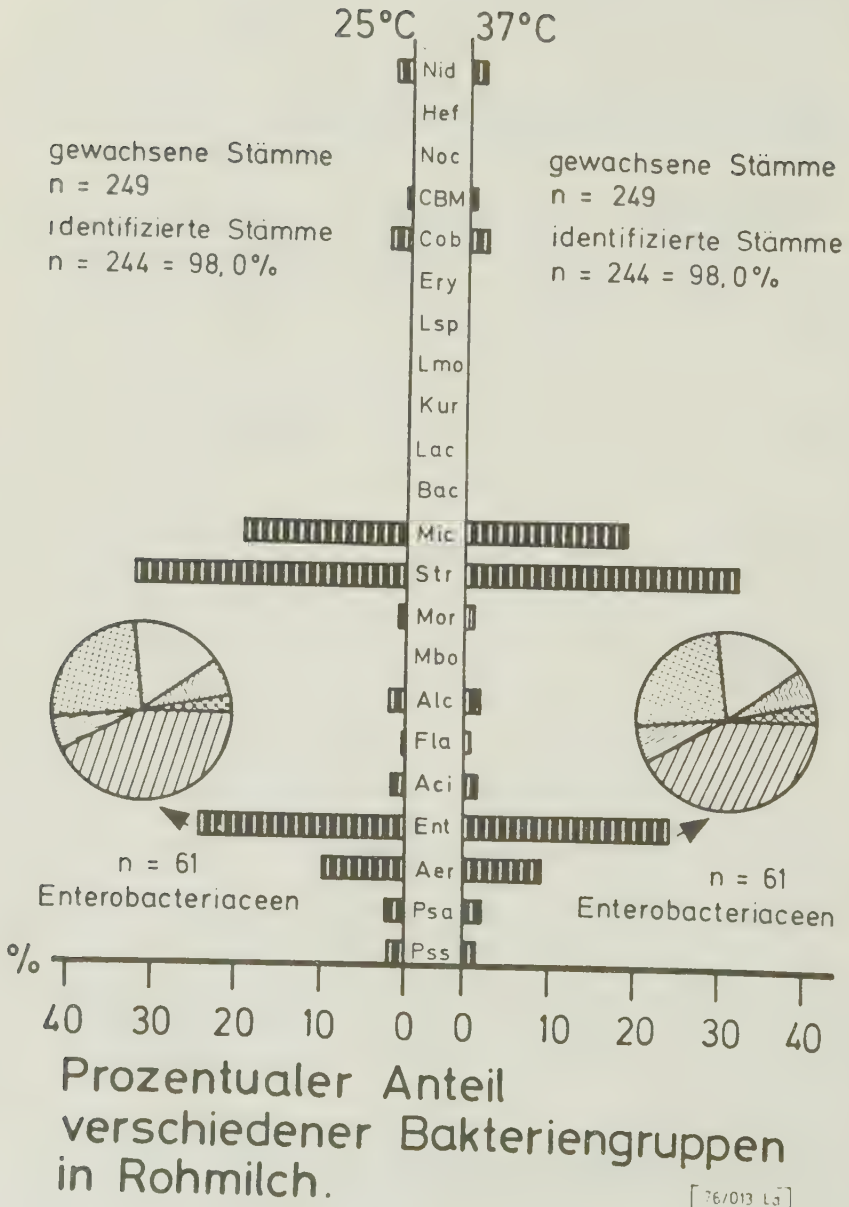


Abbildung 17

Pathogene Keime

Anreicherungsverfahren
incl. Sekundärtests

Staph. aureus: 8 Proben
Sc. agalactiae: 2 Proben
Sc. uberis: 1 Probe
Ps. aeruginosa: 4 Proben

MPT-System
incl. Sekundärtests

Staph. aureus: 2 Proben
Sc. agalactiae: 2 Proben
Sc. uberis: 1 Probe
Ps. aeruginosa: 3 Proben
Klebsiella
pneumoniae: 1 Probe

Vorkommen und errechnete Keimzahl verschiedener Bakteriengruppen in Rohmilch (n = 12)								
Bakteriengruppen	Anzahl positiver Proben	25° C			Anzahl positiver Proben	37° C		
		Errechnete Keimzahl Minimum	Errechnete Keimzahl Maximum	Errechnete Keimzahl $\bar{x}_g$		Errechnete Keimzahl Minimum	Errechnete Keimzahl Maximum	Errechnete Keimzahl $\bar{x}_g$
Pseudomonas spp.	5	8.10 ⁴	5.10 ⁵	1.10 ⁵	4	8.10 ⁴	5.10 ⁵	2.10 ⁵
Ps. aeruginosa	3	4.10 ⁴	2.10 ⁶	3.10 ⁵	3	4.10 ⁴	2.10 ⁶	3.10 ⁵
Aeromonas spp.	9	4.10 ⁴	2.10 ⁷	8.10 ⁵	9	4.10 ⁴	2.10 ⁷	8.10 ⁵
Enterobacteriaceae	11	8.10 ⁴	1.10 ⁸	2.10 ⁶	11	8.10 ⁴	1.10 ⁸	2.10 ⁶
Acinetobacter	2	2.10 ⁵	3.10 ⁵	2.10 ⁵	2	2.10 ⁵	8.10 ⁴	1.10 ⁵
Flavobacterium spp.	1	1.10 ⁵	1.10 ⁵	1.10 ⁵	2	8.10 ⁴	1.10 ⁵	1.10 ⁵
Alcaligenes spp.	3	2.10 ⁵	9.10 ⁵	3.10 ⁵	3	8.10 ⁴	9.10 ⁵	3.10 ⁵
Moraxella spp.	2	8.10 ⁴	5.10 ⁵	2.10 ⁵	2	2.10 ⁵	5.10 ⁵	3.10 ⁵
Streptococcaceae	11	2.10 ⁵	3.10 ⁷	2.10 ⁶	11	2.10 ⁵	3.10 ⁷	2.10 ⁶
Micrococcaceae	10	3.10 ⁵	1.10 ⁷	1.10 ⁶	10	3.10 ⁵	1.10 ⁷	1.10 ⁶
Corynebact. equi bovis hofmannii	4	8.10 ⁴	6.10 ⁵	3.10 ⁵	4	8.10 ⁴	6.10 ⁵	3.10 ⁵
Corynebact. } Brevibact. } Microbact. }	1	8.10 ⁴	8.10 ⁴	8.10 ⁴	2	8.10 ⁴	3.10 ⁵	2.10 ⁵

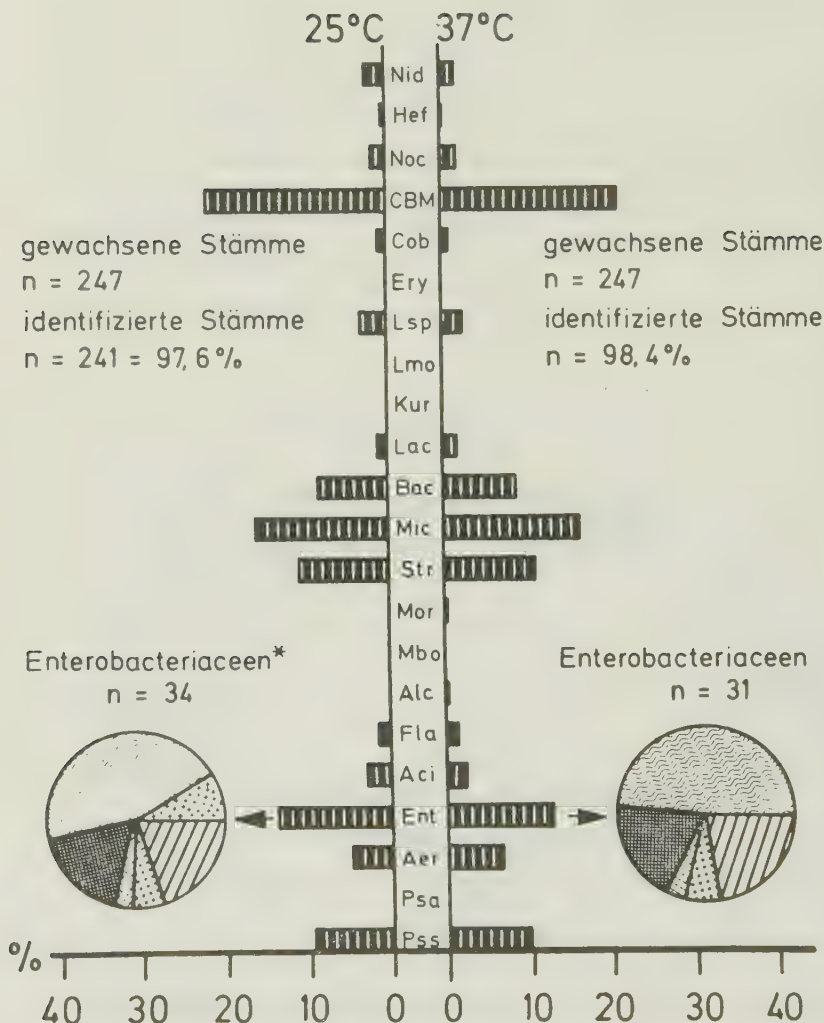
Tabelle 35

Gesamtkeimzahl

Minimum: $8,1 \cdot 10^5$ /ml
Maximum: $1,7 \cdot 10^8$ /ml
geometr. Mittel: $7,0 \cdot 10^6$ /ml

Gesamtflora (Abb.17 u. Tab. 35)

Streptococcaceae: 32,1 %
Micrococcaceae: 19,3 %
Enterobacteriaceae: 24,5 %
davon
Escherichia coli: 42,6 %
Enterobacter cloacae: 24,6 %
Citrobacter freundii: 16,4 %



Prozentualer Anteil
verschiedener Bakteriengruppen
in Trinkmilch

* und Aeromonas

76/012 La

Pathogene Keime

Anreicherungsverfahren

incl. Sekundärtests:

Ps. aeruginosa:

1 Probe

MPT-System

incl. Sekundärtests:

Bac. cereus:

4 Proben

Vorkommen und errechnete Keimzahl verschiedener Bakteriengruppen in Trinkmilch (n = 12)								
Bakteriengruppen	25° C				37° C			
	Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl			Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl		
		Minimum	Maximum	$\bar{X}_g$		Minimum	Maximum	$\bar{X}_g$
Pseudomonas spp.	2	$2 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^4$	2	$2 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^4$
Aeromonas spp.	5	$1 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^4$	$7 \cdot 10^3$	6	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^5$	$6 \cdot 10^3$
Enterobacteriaceae	8	$1 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^3$	7	$1 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^3$
Acinetobacter	3	$4 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^4$	$8 \cdot 10^3$	2	$4 \cdot 10^3$	$6 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^3$
Flavobacterium spp.	2	$1 \cdot 10^3$	$6 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^3$	2	$1 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$
Alcaligenes spp.					1	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$
Moraxella spp.					1	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$
Streptococcaceae	7	$7 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^3$	7	$7 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^3$
Micrococcaceae	9	$1 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^3$	9	$1 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^3$
Bacillus spp.	9	$1 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^4$	$4 \cdot 10^3$	9	$1 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^4$	$4 \cdot 10^3$
Lactobacillus spp.	2	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^3$	2	$1 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^4$	$4 \cdot 10^3$
Listeria spp.	4	$1 \cdot 10^3$	$7 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$	4	$1 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$
Corynebact. equi } bovis } hofmannii }	2	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$	2	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$
Corynebact. } Brevibact. } Microbact. }	10	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^4$	$6 \cdot 10^3$	9	$1 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^4$	$7 \cdot 10^3$
Nocardien	2	$1 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^4$	$4 \cdot 10^3$	2	$1 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^4$	$4 \cdot 10^3$
Hefen	1	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$	1	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$

Tabelle 36

75/0619

Gesamtkeimzahl

Gesamtflora (Abb.18 u. Tab. 36)

Minimum: $1,5 \cdot 10^4$ /ml

Coryneforme Bakterien: 22,3 %

Maximum: $4,3 \cdot 10^5$ /ml

Micrococcaceae: 16,2 %

Geometr.Mittel: $4,2 \cdot 10^4$ /ml

Enterobacteriaceae: 12,6 %
davon

Serratia liquefaciens: 44,1 %

Escherichia coli: 20,6 %

Enterobacter hafniae: 17,7 %

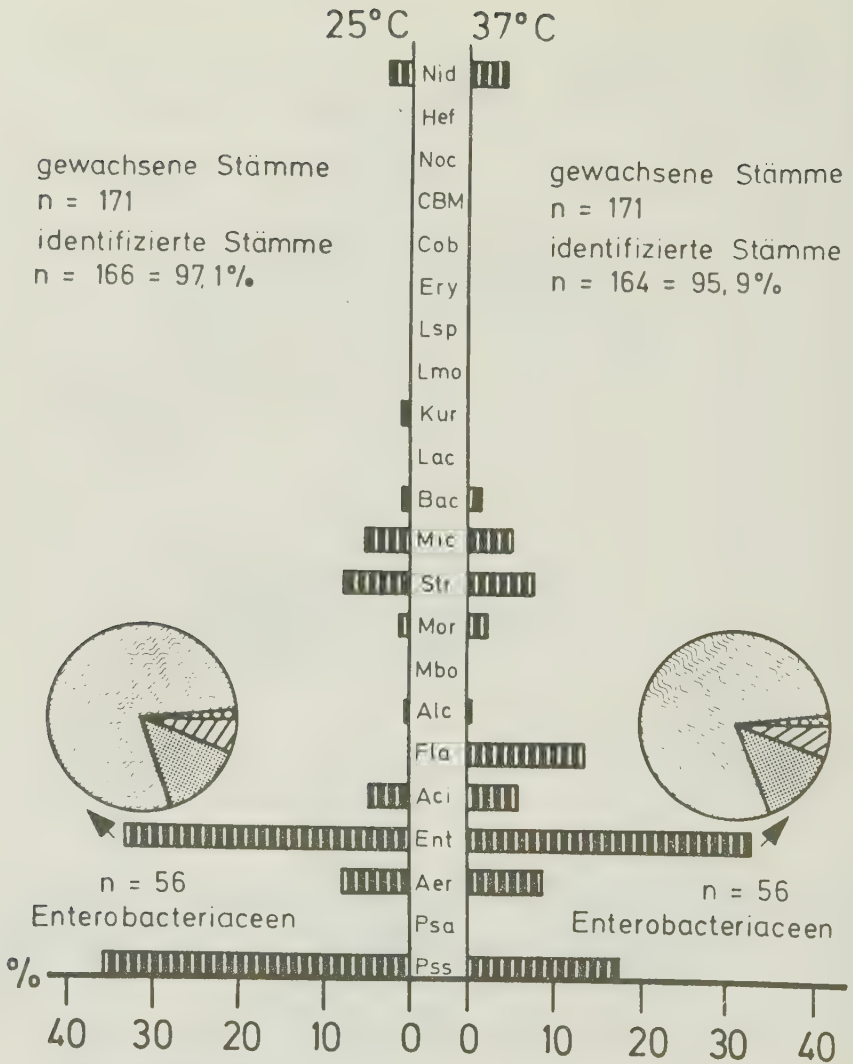


Abbildung 19

Pathogene Keime

Anreicherungsverfahren

incl. Sekundärtests: negativ

MPT-System

incl. Sekundärtests: Klebsiella pneumoniae: 1 Probe

Vorkommen und errechnete Keimzahl verschiedener Bakteriengruppen in Schlagsahne (n = 13)								
Bakteriengruppen	25° C				37° C			
	Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl			Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl		
		Minimum	Maximum	$\bar{X}_g$		Minimum	Maximum	$\bar{X}_g$
Pseudomonas spp.	5	$6 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^6$	$6 \cdot 10^3$	5	$4 \cdot 10^1$	$8 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^3$
Aeromonas spp.	6	$1 \cdot 10^0$	$4 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^2$	6	$1 \cdot 10^0$	$4 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^2$
Enterobacteriaceae	6	$2 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^6$	$7 \cdot 10^3$	6	$2 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^6$	$7 \cdot 10^3$
Acinetobacter	3	$1 \cdot 10^0$	$4 \cdot 10^5$	$6 \cdot 10^2$	5	$1 \cdot 10^0$	$4 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^2$
Flavobacterium spp.					5	$4 \cdot 10^0$	$2 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^3$
Alcaligenes spp.	1	$3 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^1$	1	$3 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^1$
Moraxella spp.	2	$3 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^2$	$7 \cdot 10^1$	2	$8 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^2$
Streptococcaceae	4	$3 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^3$	4	$3 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^3$
Micrococcaceae	4	$1 \cdot 10^0$	$9 \cdot 10^1$	$8 \cdot 10^0$	4	$1 \cdot 10^0$	$9 \cdot 10^1$	$8 \cdot 10^0$
Bacillus spp.	1	$1 \cdot 10^0$	$1 \cdot 10^0$	$1 \cdot 10^0$	2	$1 \cdot 10^0$	$1 \cdot 10^0$	$1 \cdot 10^0$
Kurthia	1	$1 \cdot 10^0$	$1 \cdot 10^0$	$1 \cdot 10^0$				
Corynebact. } Brevibact. } Microbact. }	1	$4 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^5$	1	$4 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^5$

76/031 La

Tabelle 37

Gesamtkeimzahl

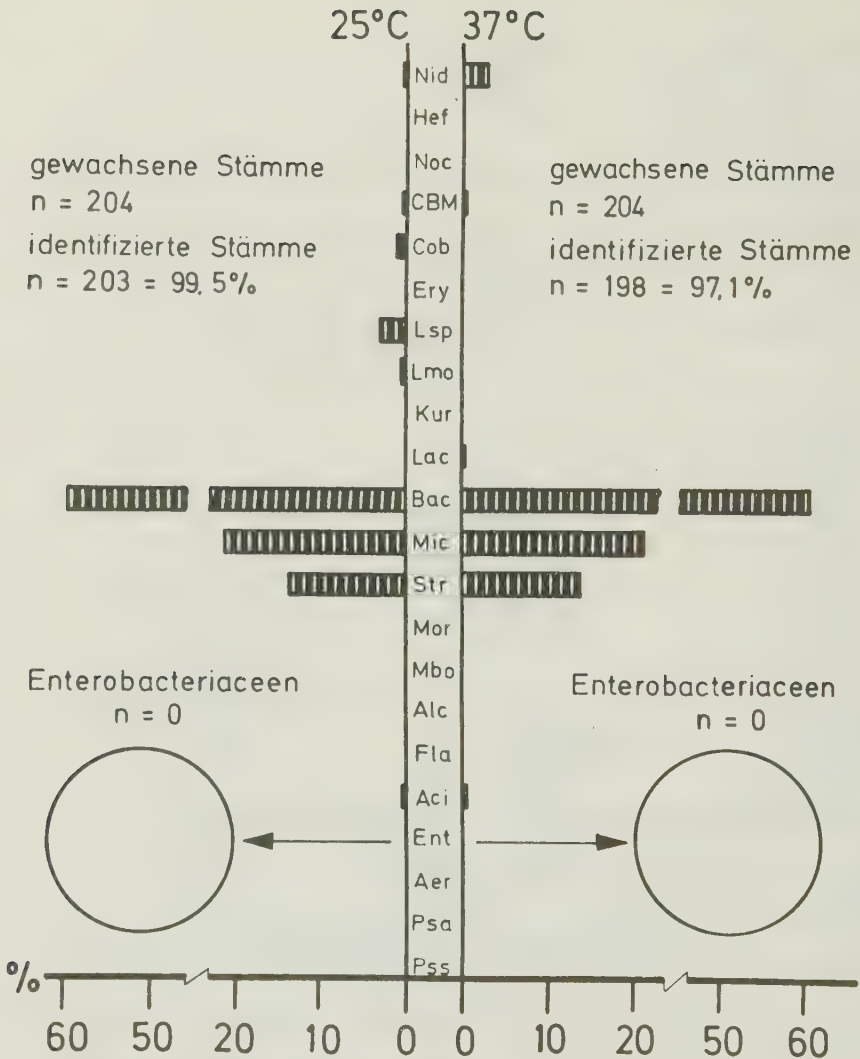
Gesamtflora (Abb.19 u. Tab. 37)

Minimum: keimfrei
Maximum: $7,7 \cdot 10^6$ /ml
Geometr.Mittel: $6,7 \cdot 10^2$ /ml

Pseudomonas spp.: 35,7 %
Aeromonas: 8,8 %
Enterobacteriaceae: 32,8 %
davon

Serratia liquefaciens: 78,6 %

Enterobacter hafniae: 14,3 %



Prozentualer Anteil
verschiedener Bakteriengruppen
in Trockenmilch.

[76/009/2]

Abbildung 20

Pathogene Keime

Anreicherungsverfahren
incl. Sekundärtests:

Staph. aureus: 1 Probe

MPT-System

incl. Sekundärtests:

Staph. aureus: 1 Probe

Bac. cereus: 4 Proben

Vorkommen und errechnete Keimzahl verschiedener Bakteriengruppen in Trockenmilch (n = 12)								
Bakteriengruppen	25° C				37° C			
	Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl			Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl		
		Minimum	Maximum	$\bar{X}_g$		Minimum	Maximum	$\bar{X}_g$
Acinetobacter	1	$3 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^2$	1	$3 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^2$
Streptococcaceae	4	$8 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^2$	4	$8 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^2$
Micrococcaceae	10	$2 \cdot 10^1$	$4 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^2$	10	$2 \cdot 10^1$	$4 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^2$
Bacillus spp.	12	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^2$	12	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^2$
Lactobacillus spp.					1	$2 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^1$
Kurthia					2	$2 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^1$
Listeria monocytogenes	1	$2 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^1$				
Listeria spp.	4	$2 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^1$	3	$2 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^1$
Corynebact. equi } Corynebact. bovis } Corynebact. hofmannii }	2	$1 \cdot 10^1$	$5 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^1$				
Corynebact. } Brevibact. } Microbact. }	1	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$	1	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$

76/042 La

Tabelle 38

Gesamtkeimzahl

Minimum: $1,2 \cdot 10^2/g$

Maximum: $5,9 \cdot 10^3/g$

geometr.Mittel: $6,1 \cdot 10^2/g$

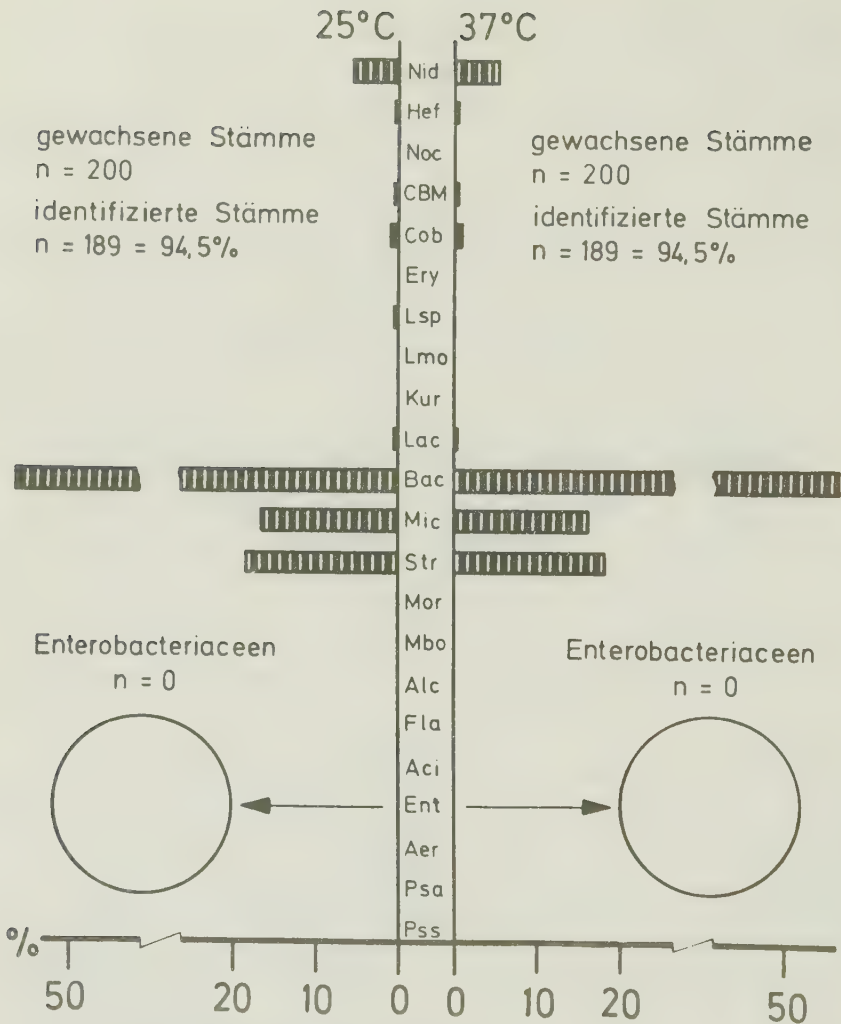
Gesamtflora (Abb.20 u. Tab. 38)

Bacillus: 60,8 %

Micrococcaceae: 21,1 %

Streptococcaceae: 13,7 %

Enterobacteriaceae: negativ



Prozentualer Anteil
verschiedener Bakteriengruppen
in Säuglingsnahrung.

(16/006 c2)

Pathogene Keime

Anreicherungsverfahren

incl. Sekundärtests: negativ

MPT-System

incl. Sekundärtests: Bac. cereus: 4 Proben

Vorkommen und errechnete Keimzahl verschiedener Bakteriengruppen in Säuglingsnahrung (n = 12)								
Bakteriengruppen	25° C				37° C			
	Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl Minimum	Errechnete Keimzahl Maximum	Errechnete Keimzahl $\bar{x}_g$	Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl Minimum	Errechnete Keimzahl Maximum	Errechnete Keimzahl $\bar{x}_g$
Streptococcaceae	7	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^2$	7	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^2$
Micrococcaceae	8	$1 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^2$	8	$1 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^2$
Bacillus spp.	10	$3 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^3$	10	$3 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^3$
Lactobacillus spp.	1	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$	1	$2 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$
Listeria spp.	1	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$				
Corynebact. equi } Corynebact. bovis } Corynebact. hofmannii }	1	$2 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^1$	1	$2 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^1$
Corynebact. } Brevibact. } Microbact. }	1	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$	1	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$
Hefen	1	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$	1	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$

76/036 Lg

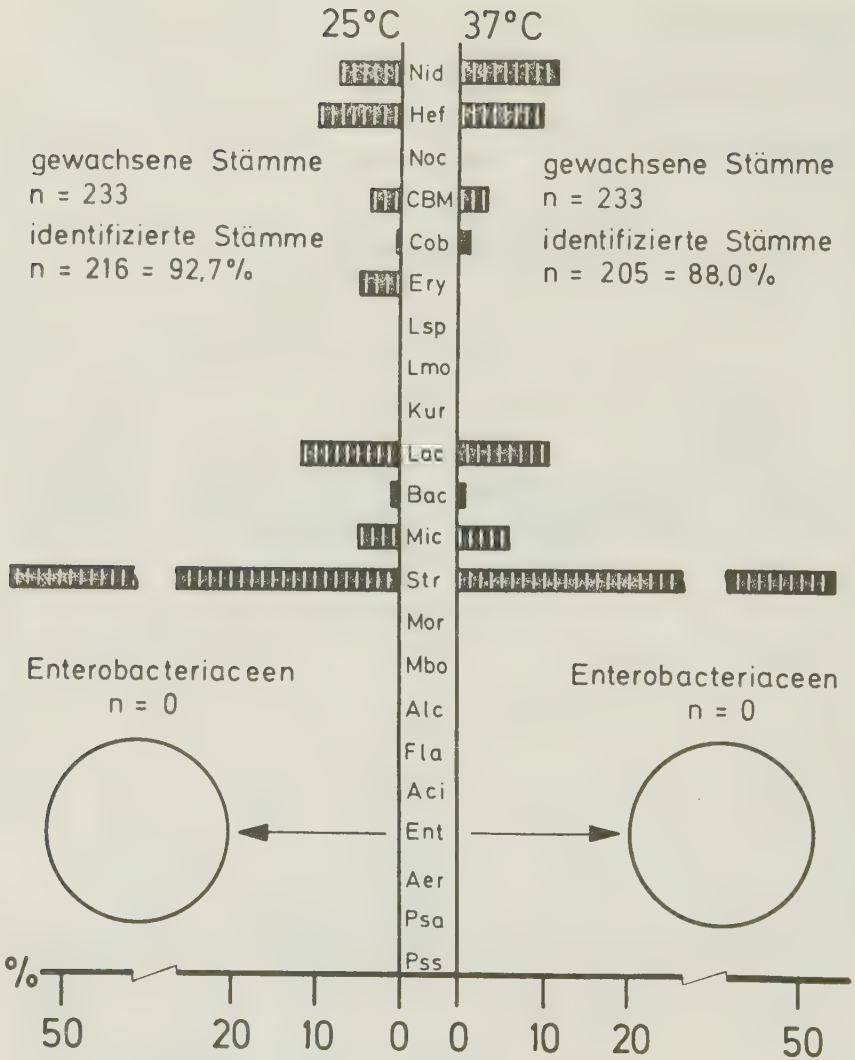
Tabelle 39

Gesamtkeimzahl

Minimum: $2,0 \cdot 10^1/g$
Maximum: $5,3 \cdot 10^4/g$
geometr.Mittel: $1,5 \cdot 10^3/g$

Gesamtflora (Abb.21 u. Tab. 39)

Bacillus: 57,0 %
Streptococcaceae: 18,5 %
Micrococcaceae: 16,5 %
Enterobacteriaceae: negativ



Prozentualer Anteil
verschiedener Bakteriengruppen
in Quark.

76/008 La

Pathogene Keime

Anreicherungsverfahren

incl. Sekundärtests: negativ

MP/T-System

incl. Sekundärtests: negativ

Vorkommen und errechnete Keimzahl verschiedener Bakteriengruppen in Quark (n = 12)								
Bakteriengruppen	Anzahl positiver Proben	25° C			Anzahl positiver Proben	37° C		
		Minimum	Maximum	$\bar{x}_g$		Minimum	Maximum	$\bar{x}_g$
Streptococcaceae	12	$2 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^6$	12	$2 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^6$
Micrococcaceae	5	$9 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^5$	5	$9 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^5$
Bacillus spp.	2	$2 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^5$	2	$2 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^5$
Lactobacillus spp.	8	$9 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^5$	5	$1 \cdot 10^4$	$4 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^5$
Erysipelothrix	2	$7 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^6$				
Corynebact. equi bovis hofmannii	1	$3 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^3$	2	$6 \cdot 10^3$	$7 \cdot 10^5$	$6 \cdot 10^4$
Corynebact. Brevibact. Microbact.	4	$9 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^5$	4	$6 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^5$
Hefen	4	$3 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^5$	4	$3 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^5$

76/028 Lo

Tabelle 40

Gesamtkeimzahl

Minimum: $5,7 \cdot 10^4/g$

Maximum: $3,4 \cdot 10^7/g$

geometr.Mittel: $4,6 \cdot 10^6/g$

Gesamtflora (Abb.22 u. Tab. 40)

Streptococcaceae: 57,1 %

Lactobacillus: 11,6 %

Hefen: 9,9 %

Enterobacteriaceae: negativ

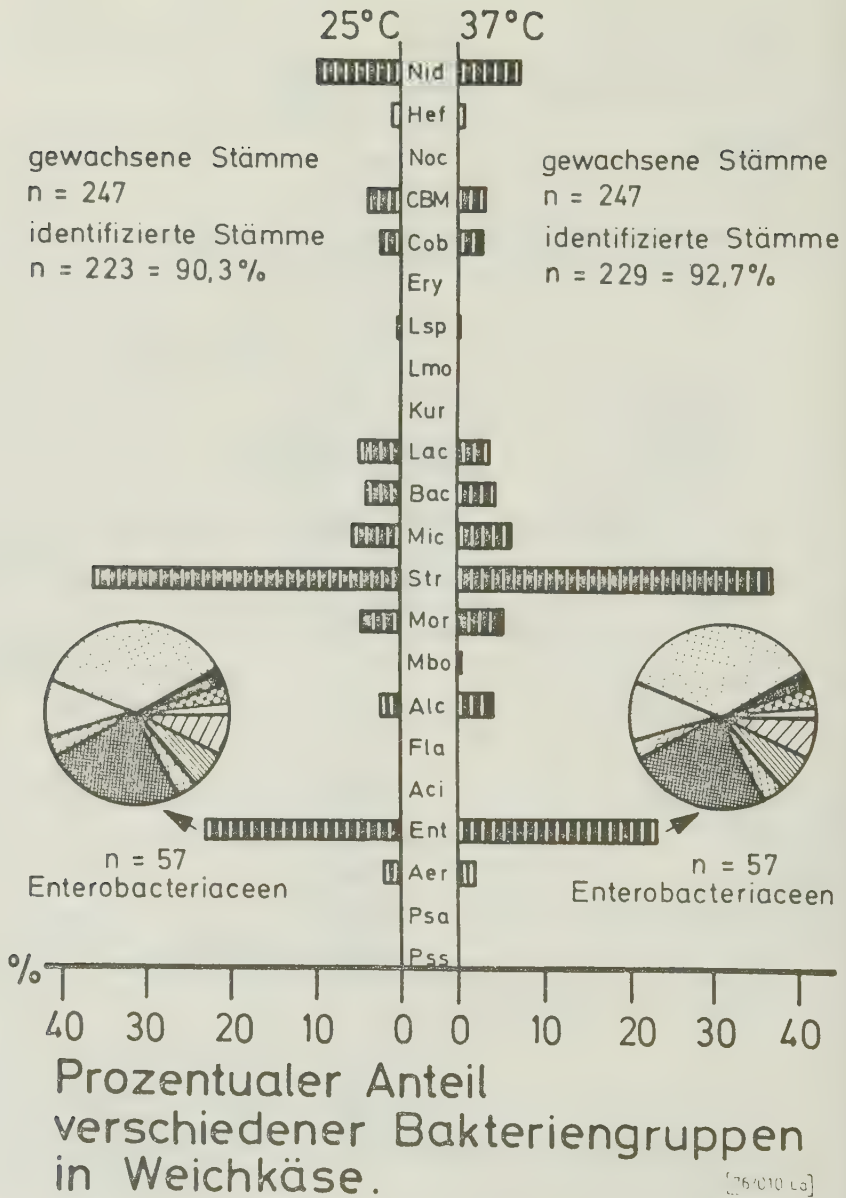


Abbildung 23

Pathogene Keime

Anreicherungsverfahren

incl. Sekundärtests: negativ

MPT-System

incl. Sekundärtests: Klebsiella pneumoniae: 1 Probe

Vorkommen und errechnete Keimzahl verschiedener Bakteriengruppen in Weichkäse (n = 12)								
Bakteriengruppen	25° C				37° C			
	Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl			Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl		
		Minimum	Maximum	$\bar{x}_g$		Minimum	Maximum	$\bar{x}_g$
Aeromonas spp.	3	$3 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^6$	3	$3 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^6$
Enterobacteriaceae	11	$5 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^8$	$1 \cdot 10^7$	11	$5 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^8$	$1 \cdot 10^7$
Alcaligenes spp.	2	$3 \cdot 10^7$	$7 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^7$	2	$7 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^8$	$9 \cdot 10^7$
Microbact. oxydativ					1	$2 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^4$
Moraxella spp.	3	$3 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^7$	$9 \cdot 10^6$	3	$1 \cdot 10^5$	$7 \cdot 10^7$	$7 \cdot 10^6$
Streptococcaceae	11	$1 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^8$	$2 \cdot 10^7$	11	$1 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^8$	$2 \cdot 10^7$
Micrococcaceae	7	$2 \cdot 10^6$	$8 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^7$	8	$1 \cdot 10^6$	$8 \cdot 10^7$	$9 \cdot 10^6$
Bacillus spp.	2	$2 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^6$	2	$2 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^6$
Lactobacillus spp.	6	$7 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^7$	$7 \cdot 10^6$	5	$3 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^6$
Listeria spp.	1	$1 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^7$	1	$1 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^7$
Corynebact. equi bovis hofmannii	4	$4 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^7$	5	$3 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^6$
Corynebact. Brevibact. Microbact.	6	$3 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^6$	5	$3 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^6$
Hefen	2	$4 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^7$	$7 \cdot 10^6$	2	$4 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^7$	$7 \cdot 10^6$

76/020 La

Tabelle 41

Gesamtkeimzahl

Minimum: $3,4 \cdot 10^6/g$
 Maximum: $5,2 \cdot 10^8/g$
 geometr. Mittel: $7,4 \cdot 10^7/g$

Gesamtflora (Abb.23 u. Tab. 41)

Streptococcaceae: 36,8 %
 Micrococcaceae: 6,1 %
 Enterobacteriaceae: 23,1 %
 davon
 Proteus vulgaris: 35,1 %
 Enterobact. hafniae: 24,6 %
 Citrobact. freundii: 10,5 %

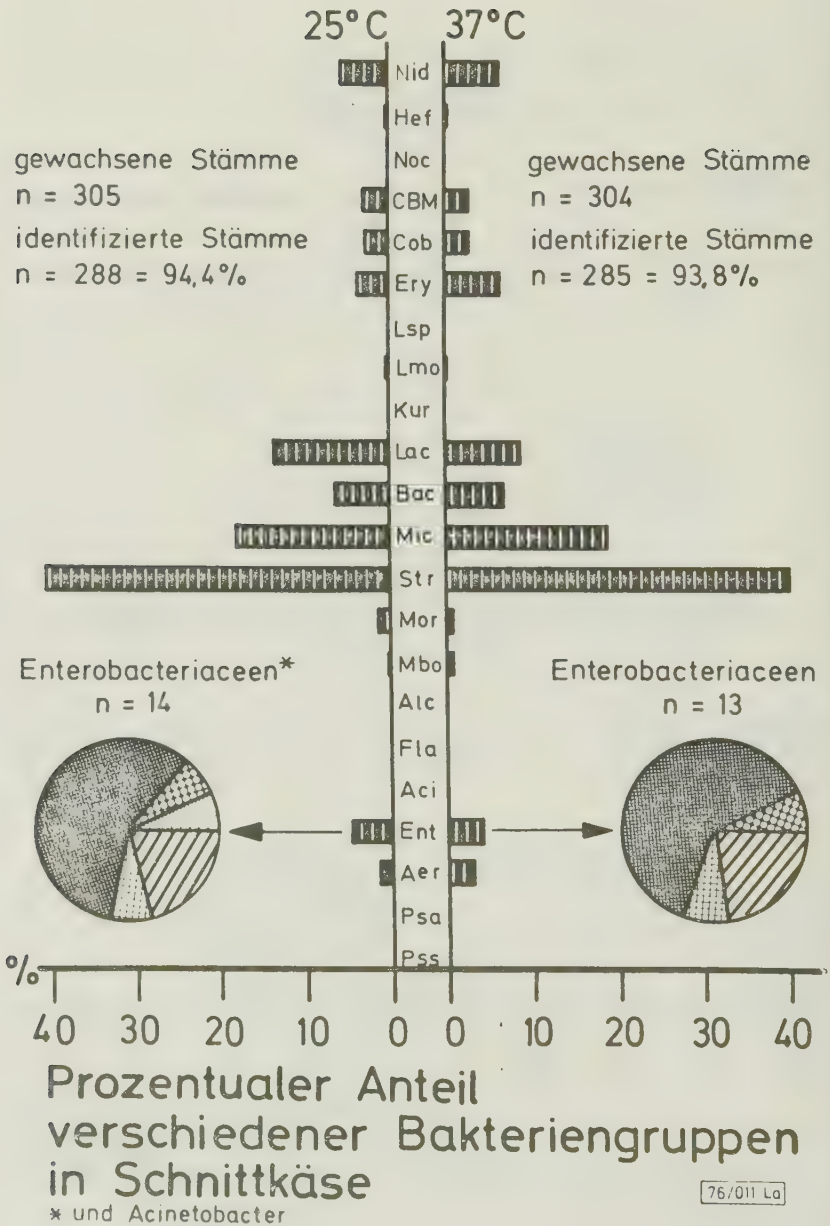


Abbildung 24

Pathogene Keime

Anreicherungsverfahren
incl. Sekundärtests:

negativ

MPT-System

incl. Sekundärtests:

Klebsiella pneumoniae: 1 Probe

Vorkommen und errechnete Keimzahl verschiedener Bakteriengruppen in Schnittkäse (n = 15)								
Bakteriengruppen	25° C				37° C			
	Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl			Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl		
		Minimum	Maximum	$\bar{x}_g$		Minimum	Maximum	$\bar{x}_g$
Aeromonas spp.	2	$7 \cdot 10^5$	$7 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^6$	3	$1 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^6$
Enterobacteriaceae	7	$5 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^6$	6	$5 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^6$
Acinetobacter					1	$3 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^6$
Microbact. oxydativ	2	$9 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^6$	3	$3 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^6$	$9 \cdot 10^5$
Moraxella spp.	1	$1 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^6$	1	$7 \cdot 10^5$	$7 \cdot 10^5$	$7 \cdot 10^5$
Streptococcaceae	14	$3 \cdot 10^5$	$7 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^6$	14	$3 \cdot 10^5$	$7 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^6$
Micrococcaceae	11	$2 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^6$	11	$2 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^6$
Bacillus spp.	6	$1 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^5$	7	$1 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^6$	$6 \cdot 10^5$
Lactobacillus spp.	11	$7 \cdot 10^4$	$6 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^6$	8	$5 \cdot 10^4$	$6 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^6$
Listeria monocytogenes	1	$9 \cdot 10^5$	$9 \cdot 10^5$	$9 \cdot 10^5$	1	$9 \cdot 10^5$	$9 \cdot 10^5$	$9 \cdot 10^5$
Erysipelothrix	6	$2 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^6$	8	$4 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^6$
Corynebact. equi } bovis } höfmannii }	1	$2 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^6$	1	$5 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^5$
Corynebact. } Brevibact. } Microbact. }	5	$4 \cdot 10^5$	$9 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^5$	5	$4 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$	$6 \cdot 10^5$
Hefen	1	$3 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^6$	1	$3 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^6$

76/030 Lg

Tabelle 42

Gesamtkeimzahl

Minimum: $5,1 \cdot 10^5/g$
Maximum: $2,6 \cdot 10^8/g$
geometr. Mittel: $2,0 \cdot 10^7/g$

Gesamtflora (Abb. 24 u. Tab. 42)

Streptococcaceae: 40,1 %
Micrococcaceae: 18,8 %
Lactobacillus: 13,4 %
Enterobacteriaceae: 4,0 %
davon
Enterobacter hafniae: 57,1 %
Escherichia coli: 21,4 %
Enterobacter cloacae: 7,1 %

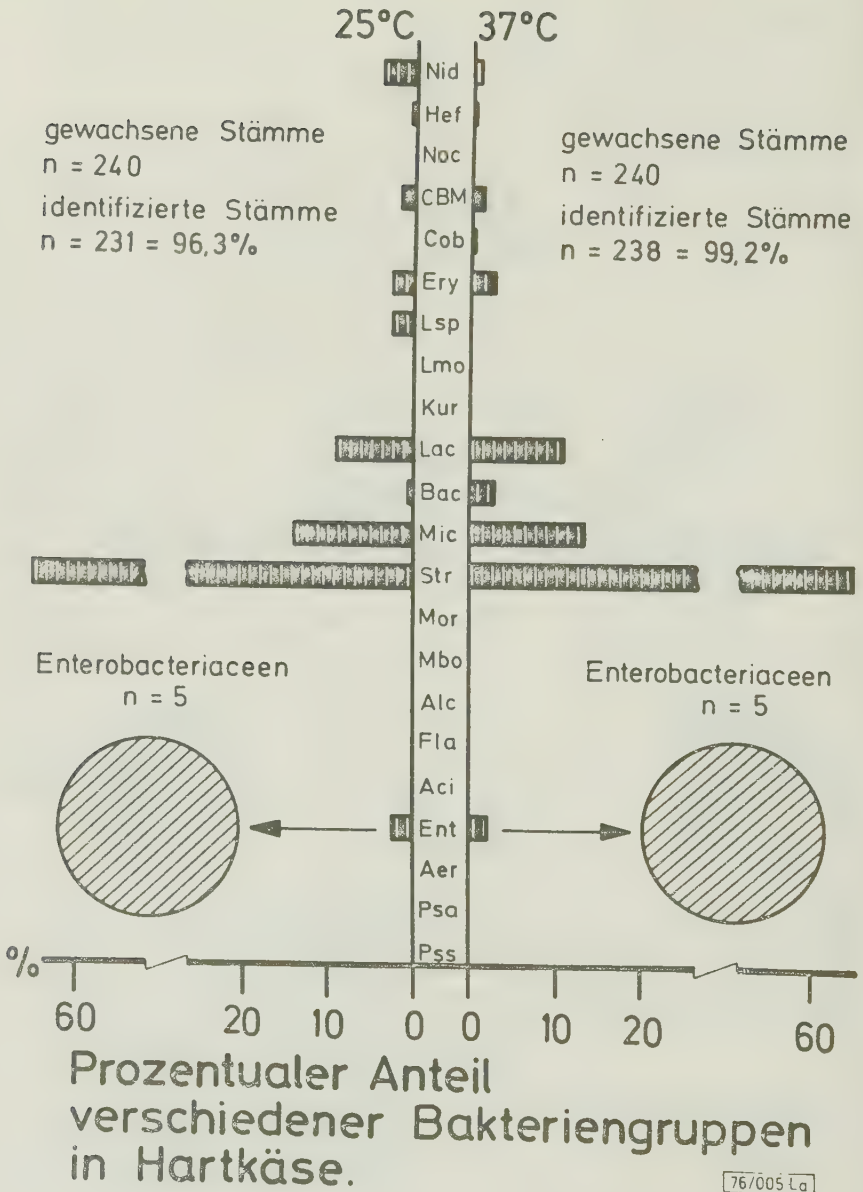


Abbildung 25

Pathogene Keime

Anreicherungsverfahren

incl. Sekundärtests: negativ

MPT-System

incl. Sekundärtests: negativ

Vorkommen und errechnete Keimzahl verschiedener Bakteriengruppen in Hartkäse (n = 12)								
Bakteriengruppen	25°				37° C			
	Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl			Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl		
		Minimum	Maximum	$\bar{X}_g$		Minimum	Maximum	$\bar{X}_g$
Enterobacteriaceae	2	$5 \cdot 10^5$	$8 \cdot 10^5$	$6 \cdot 10^5$	2	$5 \cdot 10^5$	$8 \cdot 10^5$	$6 \cdot 10^5$
Streptococcaceae	12	$7 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^6$	12	$7 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^6$
Micrococcaceae	8	$5 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^5$	7	$5 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^5$
Bacillus spp.	1	$9 \cdot 10^3$	$9 \cdot 10^3$	$9 \cdot 10^3$	5	$2 \cdot 10^3$	$7 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^5$
Lactobacillus spp.	7	$4 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^6$	7	$6 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^6$
Listeria spp.	3	$8 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^4$				
Erysipelothrix	3	$4 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^6$	3	$8 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^6$
Corynebact. equi }								
bovis }					1	$7 \cdot 10^5$	$7 \cdot 10^5$	$7 \cdot 10^5$
hofmannii }								
Corynebact. }								
Brevibact. }	3	$6 \cdot 10^4$	$6 \cdot 10^6$	$6 \cdot 10^5$	3	$2 \cdot 10^5$	$6 \cdot 10^6$	$8 \cdot 10^5$
Microbact. }								
Hefen	1	$9 \cdot 10^4$	$9 \cdot 10^4$	$9 \cdot 10^4$	1	$9 \cdot 10^4$	$9 \cdot 10^4$	$9 \cdot 10^4$

[76/039 L₀]

Tabelle 43

Gesamtkeimzahl

Minimum: $1,7 \cdot 10^5/g$

Maximum: $1,3 \cdot 10^8/g$

geometr.Mittel: $5,7 \cdot 10^6/g$

Gesamtflora (Abb.25 u. Tab.43)

Streptococcaceae: 65,0 %

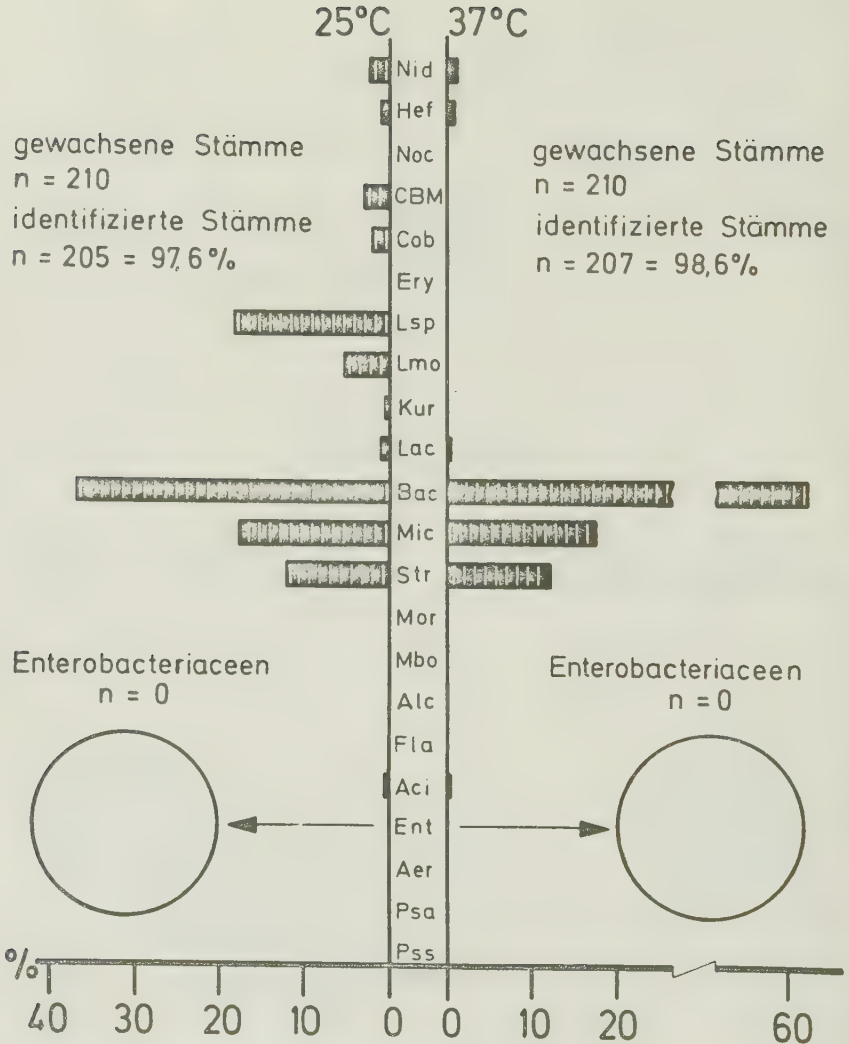
Micrococcaceae: 13,3 %

Lactobacillus: 10,8 %

Enterobacteriaceae: 2,1 %

davon

Escherichia coli: 100 %



Prozentualer Anteil
verschiedener Bakteriengruppen
in Schmelzkäse.

[76/004 La]

Pathogene Keime

Anreicherungsverfahren
incl. Sekundärtests:

negativ

MPT-System

incl. Sekundärtests:

Bacillus cereus: 6 Proben

Vorkommen und errechnete Keimzahl verschiedener Bakteriengruppen in Schmelzkäse (n = 12)								
Bakteriengruppen	25° C				37° C			
	Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl			Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl		
		Minimum	Maximum	$\bar{x}_g$		Minimum	Maximum	$\bar{x}_g$
<i>Acinetobacter</i>	1	$5 \cdot 10^1$	$5 \cdot 10^1$	$5 \cdot 10^1$	1	$5 \cdot 10^1$	$5 \cdot 10^1$	$5 \cdot 10^1$
Streptococcaceae	2	$5 \cdot 10^3$	$8 \cdot 10^3$	$7 \cdot 10^3$	2	$5 \cdot 10^3$	$8 \cdot 10^3$	$7 \cdot 10^3$
Micrococcaceae	8	$3 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^3$	8	$3 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^3$
<i>Bacillus</i> spp.	8	$7 \cdot 10^1$	$8 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^3$	10	$2 \cdot 10^2$	$8 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^3$
<i>Lactobacillus</i> spp.	1	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$	1	$6 \cdot 10^2$	$6 \cdot 10^2$	$6 \cdot 10^2$
<i>Kurthia</i>	1	$2 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^1$				
<i>Listeria monocytogenes</i>	2	$3 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^3$	$8 \cdot 10^2$				
<i>Listeria</i> spp.	8	$4 \cdot 10^1$	$4 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^2$				
<i>Corynebact. equi</i>	2	$2 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^2$	$6 \cdot 10^1$	3	$2 \cdot 10^1$	$4 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^2$
<i>Corynebact. bovis</i>								
<i>Corynebact. hofmannii</i>								
<i>Corynebact.</i>	3	$4 \cdot 10^1$	$4 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^2$	4	$3 \cdot 10^1$	$4 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^2$
<i>Brevibact.</i>								
<i>Microbact.</i>								
Hefen	1	$1 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^5$	1	$1 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^5$

76/037 La

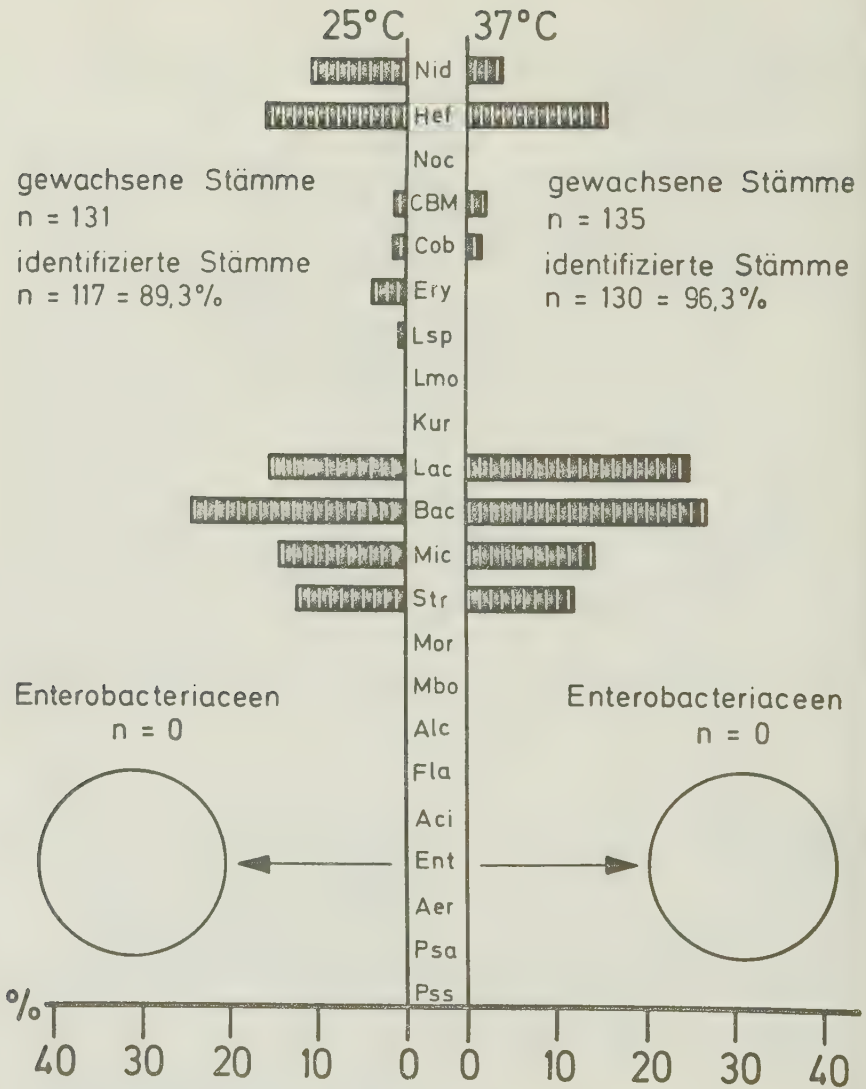
Tabelle 44

Gesamtkeimzahl

Minimum: $3,6 \cdot 10^2/g$
Maximum: $1,1 \cdot 10^6/g$
geometr.Mittel: $5,3 \cdot 10^3/g$

Gesamtflora (Abb.26 u. Tab. 44)

Bacillus: 62,4 %
Micrococcaceae: 17,6 %
Streptococcaceae: 12,4 %
Enterobacteriaceae: negativ



Prozentualer Anteil
verschiedener Bakteriengruppen
in Joghurt.

[76/003 La]

Pathogene Keime

Anreicherungsverfahren

incl. Sekundärtests: negativ

MPT-System

incl. Sekundärtests: negativ

Vorkommen und errechnete Keimzahl verschiedener Bakteriengruppen in Joghurt (n = 12)								
Bakteriengruppen	25°				37° C			
	Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl			Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl		
		Minimum	Maximum	$\bar{x}_q$		Minimum	Maximum	$\bar{x}_q$
Microbact. oxydativ	1	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$				
Streptococcaceae	3	$2 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^5$	3	$2 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^5$
Micrococcaceae	5	$2 \cdot 10^1$	$8 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^6$	5	$2 \cdot 10^1$	$8 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^6$
Bacillus spp.	5	$5 \cdot 10^1$	$6 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^4$	6	$5 \cdot 10^1$	$4 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^5$
Lactobacillus spp.	5	$2 \cdot 10^3$	$6 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^5$	5	$1 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^7$	$8 \cdot 10^5$
Listeria spp.	1	$3 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^4$				
Erysipelothrix	3	$2 \cdot 10^4$	$9 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^5$				
Corynebact. equi Corynebact. bovis Corynebact. hofmannii	2	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^4$	2	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^4$
Corynebact.								
Brevibact.	1	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$				
Microbact.								
Hefen	3	$1 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^7$	3	$1 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^7$

76/032 Lo

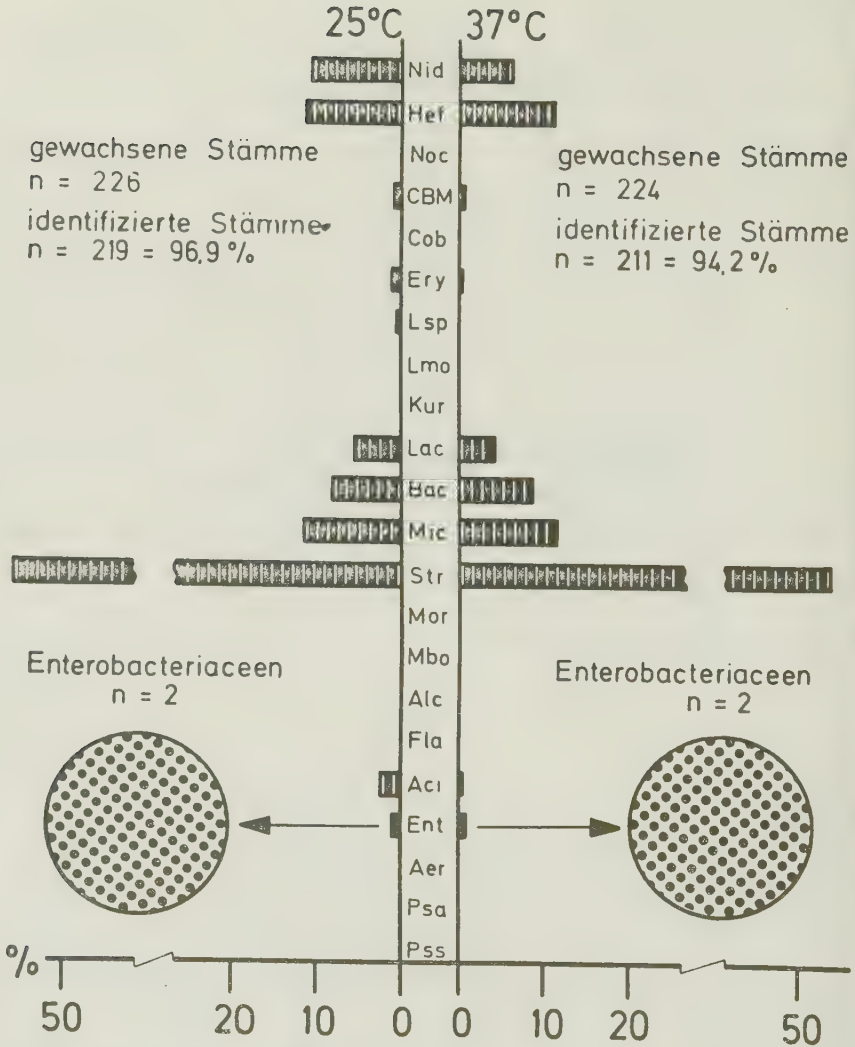
Tabelle 45

Gesamtkeimzahl

Minimum: keimfrei
Maximum: $2,1 \cdot 10^8/g$
geometr. Mittel: $3,7 \cdot 10^5/g$

Gesamtflora (Abb.²⁷ u. Tab. 45)

Bacillus: 26,7 %
Lactobacillus: 25,2 %
Hefen: 16,0 %
(Sc. thermophilus 12,2 %)
Enterobacteriaceae: negativ



Prozentualer Anteil
verschiedener Bakteriengruppen
in Butter.

76/002 La

Pathogene Keime

Anreicherungsverfahren

incl. Sekundärtests: negativ

MPT-System

incl. Sekundärtests: *Yersinia enterocolitica*: 1 Probe

Vorkommen und errechnete Keimzahl verschiedener Bakteriengruppen in Butter (n = 12)								
Bakteriengruppen	Anzahl positiver Proben	25° C			Anzahl positiver Proben	37° C		
		Minimum	Maximum	$\bar{x}_g$		Minimum	Maximum	$\bar{x}_g$
Enterobacteriaceae	2	$4 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^2$	2	$4 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^2$
Acinetobacter	3	$1 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^2$	$6 \cdot 10^1$	1	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$
Streptococcaceae	10	$1 \cdot 10^2$	$7 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^4$	10	$1 \cdot 10^2$	$7 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^4$
Micrococcaceae	7	$8 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^3$	7	$8 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^3$
Bacillus spp.	6	$1 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^2$	6	$1 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^3$	$6 \cdot 10^2$
Lactobacillus spp.	5	$3 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^4$	$7 \cdot 10^3$	6	$4 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^3$
Listeria spp.	1	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$				
Erysipelothrix	1	$2 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^4$	1	$8 \cdot 10^3$	$8 \cdot 10^3$	$8 \cdot 10^3$
Corynebact. } Brevibact. } Microbact. }	1	$6 \cdot 10^3$	$6 \cdot 10^3$	$6 \cdot 10^3$	1	$6 \cdot 10^3$	$6 \cdot 10^3$	$6 \cdot 10^3$

76/021 Lo

Tabelle 46

Gesamtkeimzahl

Minimum: $4,5 \cdot 10^1/g$

Maximum: $7,5 \cdot 10^5/g$

geometr.Mittel: $1,8 \cdot 10^4/g$

Gesamtflora (Abb.28 u. Tab. 46)

Streptococcaceae: 55,8 %

Micrococcaceae: 11,5 %

Hefen: 11,1 %

Enterobacteriaceae: 0,9 %

davon

Yersinia enterocolitica: 100 %

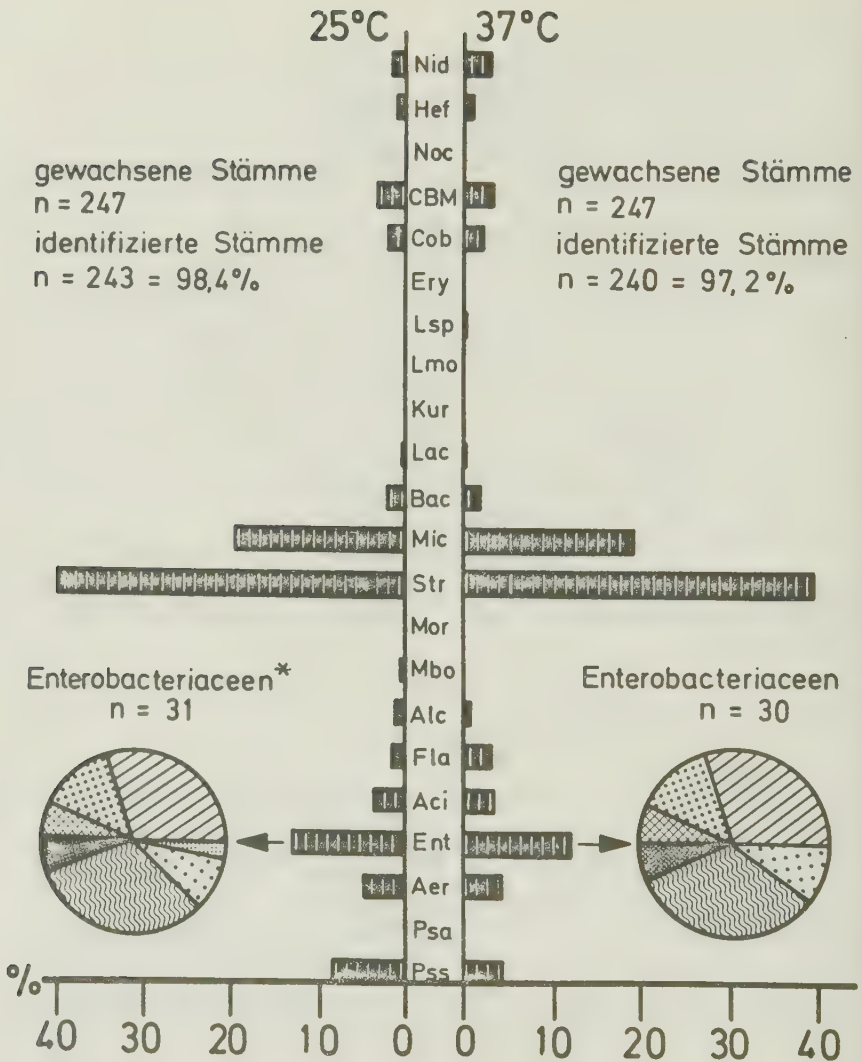


Abbildung 29

Pathogene Keime

Anreicherungsverfahren
incl. Sekundärtests:

Staph. aureus: 2 Proben
Ps. aeruginosa: 1 Probe

MPT-System

incl. Sekundärtests:

Staph. aureus: 2 Proben
Bac. cereus: 3 Proben

Vorkommen und errechnete Keimzahl verschiedener Bakteriengruppen in Speiseeis (n = 12)								
Bakteriengruppen	25° C				37° C			
	Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl			Anzahl positiver Proben	Errechnete Keimzahl		
		Minimum	Maximum	$\bar{x}_g$		Minimum	Maximum	$\bar{x}_g$
Pseudomonas spp.	5	$1 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^4$	5	$9 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^4$	$7 \cdot 10^3$
Aeromonas spp.	5	$3 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^5$	5	$3 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^5$
Enterobacteriaceae	8	$6 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^4$	8	$6 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^4$
Acinetobacter	5	$3 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^4$	6	$3 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^4$
Flavobacterium spp.	3	$3 \cdot 10^3$	$9 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^3$	4	$3 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^4$	$8 \cdot 10^3$
Alcaligenes spp.	1	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^4$	1	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^4$
Microbact. oxydativ	1	$3 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^1$				
Streptococcaceae	12	$9 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^8$	$5 \cdot 10^4$	12	$9 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^8$	$5 \cdot 10^4$
Micrococcaceae	9	$5 \cdot 10^3$	$8 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^5$	9	$5 \cdot 10^3$	$8 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^5$
Bacillus spp.	4	$5 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^5$	4	$5 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^5$
Lactobacillus spp.	1	$3 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^3$	1	$3 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^3$
Corynebact. equi	1	$2 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$	1	$2 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$
Corynebact. bovis								
Corynebact. hofmannii								
Corynebact. } Brevibact. } Microbact. }	2	$2 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^5$	$6 \cdot 10^3$	2	$2 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^5$	$6 \cdot 10^3$
Hefen	1	$3 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^5$	1	$3 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^5$

76/038 Lg

Tabelle 47

Gesamtkeimzahl

Minimum: $1,3 \cdot 10^2/g$
Maximum: $3,3 \cdot 10^8/g$
geometr. Mittel: $2,0 \cdot 10^5/g$

Gesamtflora (Abb. 29 u. Tab. 47)

Streptococcaceae: 39,7 %
Micrococcaceae: 19,4 %
Enterobacteriaceae: 12,2 %
davon
Serratia liquefaciens: 32,3 %
Escherichia coli: 29,0 %
Enterobacter agglomerans: 12,9 %

4. SCHLUSSBEMERKUNGEN UND DISKUSSION

Allgemeines

Der zunehmende Trend in der Lebensmittelindustrie, große Mengen von Rohmaterial zu sammeln, technologisch in weitgehend standardisierten und automatisierten Verfahren zu bearbeiten und über weite Strecken dem Großhandel und den Verteilerorganisationen zuzustellen sowie schließlich die längere Vorratshaltung tischfertiger Nahrungsmittel im Haushalt sind mit einem erhöhten mikrobiellen Risiko verbunden. Während in den letzten Jahrzehnten in der Bekämpfung allgemeiner seuchenhafter Erkrankungen des Menschen eindrucksvolle Ergebnisse erzielt werden konnten, scheinen die durch Lebensmittel übertragbaren Infektions- und Intoxikationserreger - im Ganzen gesehen - eher zu- als abzunehmen. Zudem verderben nach einer Schätzung der Deutschen Gesellschaft für Ernährung in einem Drei-Personen-Haushalt der Bundesrepublik jährlich Lebensmittel im Werte von durchschnittlich DM 650,-. Bei Nahrungsmittel-Gesamtausgaben von DM 6.500,- pro Haushalt und Jahr ist dies eine Verlustquote von 10 % (DGE, aus Frankfurter Allgemeine Zeitung vom 3.2.1976). Zweifellos ist davon der überwiegende Teil mikrobiell bedingt.

Um den mikrobiellen Verderb sowie das Vorkommen obligat und fakultativ pathogener Lebensmittelvergifter besser kontrollieren zu können, erscheint es notwendig, produktbegleitend vom Rohmaterial über alle Stufen der Bearbeitung bis zum Handel und Konsum die typische Flora der verschiedenen Nahrungsmittel bei unterschiedlichen Aufbewahrungsbedingungen eingehender zu analysieren. Auf diese Weise ist es möglich, zu "ökologischen Normalwerten" zu gelangen und ggf. die technologischen Prozesse zugunsten einer antagonistisch wirkenden glykolytischen Flora zu steuern.

Da unter den Prokaryonten morphologische Merkmale keine ausreichende Differenzierung ermöglichen, müssen zusätzlich typische Stoffwechselleistungen herangezogen werden, wie sie in BERGEY's Manual angegeben sind. Auf dieser Grundlage ist ein für die Praxis der Bakterienidentifizierung äußerst wertvolles System im Jahre 1966 von COWAN und STEEL publiziert worden: Aus den Untersuchungskriterien wurden nach inter-

nationalen Angaben und eigenen Erfahrungen der Autoren solche ausgewählt, die die höchste Konstanz und Wiederholbarkeit aufwiesen. Diese sind auch für die in der vorstehenden Arbeit beschriebenen Untersuchungen herangezogen worden.

Unabdingbare Voraussetzung für die Identifizierung von Mikroorganismen ist das Vorliegen einer möglichst nicht aus Selektivmedien gewonnenen Reinkultur und deren anschließende Untersuchung mit Hilfe der Gramfärbung sowie die weitere Unterteilung nach morphologischen Merkmalen (Säurefestigkeit, Sporenbildung, Beweglichkeit) und grundlegenden physiologischen Merkmalen (Sauerstoffanspruch, Katalase- und Oxydasebildung). Von hier ausgehend wird die Metabolisierung der unterschiedlichen Reaktionskörper gemessen. Entsprechend der Hierarchie der eingesetzten Methoden ist zwischen primären, sekundären und - partiell - auch tertiären Testmethoden zu unterscheiden. Mit den Primärtests gelingt es im Regelfalle, die Bakterien einer Gattung oder zumindest einer kleineren Gruppe verwandter Gattungen zuzuordnen. Lebensmittelhygienisch ist diese Identifizierungsebene für Saprophyten im allgemeinen ausreichend. Für obligat oder fakultativ pathogene Mikroben ist darüberhinaus eine eingehende Differenzierung bis zur species oder subspecies und für epidemiologische Zwecke - soweit möglich - eine feinere Unterteilung durch Verwendung der Serologie oder Lysotypie erforderlich.

Zu Material und zu Methodik

Technisch-methodisch wurden Floraanalysen bisher überwiegend in Reagenzgläsern bzw. Petrischalen durchgeführt. Der hiermit verbundene Aufwand - Zusammenstellen der erforderlichen Medien und Teströhrchen, konsekutives Überimpfen des Untersuchungsmaterials und Platzanspruch für Lagerung und Inkubation - begrenzt zwangsläufig den Umfang der vorzunehmenden Untersuchungen in so starkem Maße, daß nur relativ wenige umfassende Floraanalysen bekannt geworden sind.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es deshalb, die o. a. Primärtests in den bisher überwiegend für virologisch-

serologische Zwecke eingesetzten Mikrotitertabletts zu miniaturisieren, zu systematisieren und damit effektiver zu gestalten. Unabhängig hiervon sollte der Nachweis pathogener Mikroben auch über konventionelle Verfahren der Anreicherung und Züchtung erfolgen.

Zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl ist neben dem üblichen Plate-count-Verfahren auch die Anzüchtung auf der Blutplatte vorgenommen worden (Oberflächenbeimpfung), um einerseits auch anspruchsvollen Keimen entsprechende Wachstumsbedingungen zu bieten, andererseits - ohne weitere Subkultivierung - eine eventuell vorhandene, für die Identifizierung wichtige Hämolyse, zu erkennen. Wie Tab. 29 zeigt, liegen die Gesamtkeimzahlen beider Medien mit Ausnahme von Joghurt und Säuglingsnahrung innerhalb der gleichen Zehnerpotenz. In beiden Fällen dürfte das mikroaerophile Milieu der Gußplatten zur höheren Keimzahl geführt haben, da in diesen Erzeugnissen Laktobazillen dominieren.

Von derjenigen Blutplatte, die auszählbare und isolierungsfähige Kolonien zeigte, wurden nach dem Zufälligkeitsprinzip mit Hilfe eines Rasters 20 Kolonien entnommen, die der Herstellung jeweils einer Masterkultur zur Durchführung der Primärtests dienten (s. Abb. 1). Während durch die Verwendung spezifischer Anreicherungsverfahren und Selektivmedien im konventionellen System gezielt nach bestimmten Bakterientaxa gesucht wird, ergibt die Blutplatte sowohl bei aerober als auch anaerober Inkubation für nahezu alle relevanten Keime optimale Wachstumsbedingungen. Durch die Entnahme von 20 Kolonien von einer Verdünnungsstufe einer Probe soll der bakteriologische Status grob charakterisiert werden. Dabei wird davon ausgegangen, daß die mengenmäßige Verteilung verschiedener Bakterientaxa sich auch in dieser bedingt repräsentativen Anzahl der isolierten Kolonien praktischen Zwecken entsprechend hinreichend sicher widerspiegelt. In diesem Zusammenhang ist darauf hinzuweisen, daß - in Abhängigkeit von der Gesamtkeimzahl der Probe - unterschiedlich hohe Verdünnungsstufen zur Auswertung gelangen. Dies ist zwangsläufig mit der Einschränkung verbunden, daß im Ausgangsmaterial in geringer Keimzahl vorhandene Gattungen "herausverdünnt" werden. Die praktische Bedeutung dieser Fehlerquelle

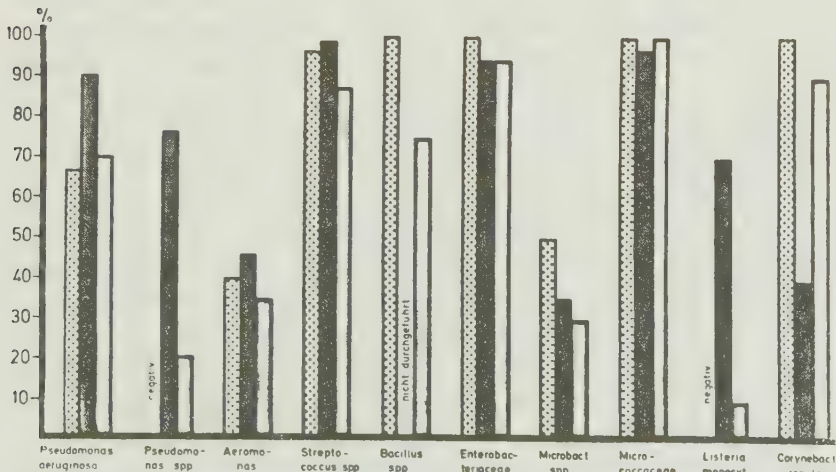
ist im einzelnen noch nicht bestimmt worden. Zweifelsohne wird jedoch die dominierende Flora in ausreichendem Maße erfaßt und zwar bei den vorliegenden Untersuchungen in einer Probe bis zu 8 der mit Primärtests identifizierten Taxa.

Für die vorliegende Floraanalyse wurden die isolierten Kolonien vor Anlegen der Master-Kultur in 7 ml TS-Bouillon angereichert. Durch direkte Übertragung der Kolonien in die mit nur 200 µl Medium gefüllten Vertiefungen der Master-Platte kann der Untersuchungsgang wesentlich verkürzt werden.

Die technische Auslegung des MPT-Systems ermöglicht durch Verwendung eines sogenannten Vielpunktbeimpfungsgerätes die Inokulation von zahlreichen Testtablets innerhalb weniger Minuten. Um allen Wachstumsbedürfnissen der verschiedenen Taxa gerecht zu werden, können parallel angesetzte Tablets ohne erheblichen Mehraufwand unter verschiedenen Bedingungen inkubiert werden. Hierdurch wird gerade für Lebensmitteluntersuchungen die diagnostische Sicherheit wesentlich erhöht.

Zur diagnostischen Sicherheit des MPT-Systems

Bei einem Vergleich der Ergebnisse des konventionellen Verfahrens und des MPT-Systems mit den in der Literatur angegebenen Referenzwerten, die gleich 100 % gesetzt sind, ergibt sich folgendes Bild:



Prozentuale Übereinstimmung zwischen Referenzwerten (=100%) und Ergebnissen des konventionellen Verfahrens und des MPT-Systems unter Berücksichtigung verschiedener Bakterientaxa (Referenzstämmen)

• Konventionelles Verfahren

• Mikrotiter 25°C/72h

• Mikrotiter 37°C/48h

[19 Meis]

Abbildung 30

Abbildung 30 zeigt, daß für die vergleichende Darstellung des MPT-Systems die bei 25° C/72 Std. bzw. 37° C/48 Std. erhaltenen Werte ausgewählt wurden. Diese Bedingungen hatten insgesamt gesehen für die einzelnen Tests über alle Taxa hinweg die besten Resultate erbracht (siehe Tabelle 34). Die Ergebnisse des konventionellen Verfahrens beruhen auf den für das jeweilige Taxon in der Literatur angegebenen Inkubationsbedingungen. Diese sind für *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas* spp., *Streptococcus*, *Bacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Micrococcus*, *Corynebacterium* und *Microbacterium* 37° C, für *Pseudomonas* spp. 25° C und für den Beweglichkeitstest bei *Listeria* 22° C. Die vom jeweiligen Test abhängige Inkubationsdauer ist in der tabellarischen Darstellung auf Seite 37 wiedergegeben. Die in Abbildung 30 dargestellten Werte zeigen den Prozentsatz der innerhalb des entsprechenden Taxons unter den beschriebenen Bedingungen identifizierten Stämme. Die Werte errechnen sich aus den Einzeltests, die für die jeweilige Art, Gattung oder Familie für die Diagnose essentiell sind. Diese sind z.B. für *Pseudomonas aeruginosa* Beweglichkeit, Cytochromoxydase und der O/F-Test, für *Bacillus* spp. Katalase und Sporenbildung. Gramverhalten und Morphologie entsprachen in allen Fällen den geforderten Referenzwerten und werden daher in dieser Angabe nicht berücksichtigt. Die Gesamtübereinstimmung wird zwangsläufig wesentlich durch denjenigen Primärtest bestimmt, der die Referenzangaben im geringsten Maße erfüllt. Dieser Wert wird der absolut limitierende Faktor, wenn alle übrigen Primärtestergebnisse den Referenzangaben zu 100 % entsprechen. Ist dieses nicht so, dann entspricht der tatsächliche Übereinstimmungsgrad im geringsten Fall dem Ergebnis des Einzeltests mit der geringsten Übereinstimmung und im ungünstigsten Fall der Summe aller nicht mit den Referenzwerten übereinstimmenden Ergebnissen. Dies soll am folgenden Beispiel erläutert werden:

Die essentiellen Einzeltests zur Diagnose der Gattung *Pseudomonas* sind die Prüfung auf Beweglichkeit, der Nachweis von Cytochromoxydase und der O/F-Test. Angenommen, von 100 untersuchten Stämmen zeigt der Beweglichkeitstest eine Übereinstimmung von 90 %, der Cytochromoxydase-Test von 60 % und

der O/F-Test von 80 % zu den geforderten Referenzwerten, so kann die höchste Identifizierungsrate 60 % betragen, da der Cytochromoxydase-Test den limitierenden Faktor darstellt unter der Voraussetzung, daß die in den übrigen Tests abweichenden Ergebnisse dieselben Stämme betreffen. Die rechnerisch geringste Identifizierungsrate kann erreicht werden, wenn die falsche Übereinstimmung beim Beweglichkeitstest die Stämme 1 - 10 ($n = 10$), beim Cytochromoxydase-Test die Stämme 11 - 50 ($n = 40$) und beim O/F-Test die Stämme 51 - 70 ($n = 20$) betrifft. Dadurch ergäbe sich eine Identifizierungsrate für die Gattung *Pseudomonas* von nur 30 % ($n = 30$). Zwischen diesen beiden Extremen kann sich somit der Prozentsatz der identifizierten Stämme bewegen, der sich in den vorliegenden Untersuchungen nur mit dem in Kapitel 3.3 beschriebenen Auswertungsmodus bestimmen läßt.

Die Tabellen 32 und 34 machen deutlich, wie empfindlich diagnostische Systeme gegenüber Änderungen der Inkubationsbedingungen sind. Daraus folgt, daß im Rahmen einer Floraanalyse nur der Einsatz mehrerer Zeit-Temperatur-Kombinationen eine maximale diagnostische Sicherheit gewährleisten. Dieses dürfte aus technischen Gründen (Material, Arbeit, Raum) unter praktischen Bedingungen nur mit Hilfe eines miniaturisierten Verfahrens möglich sein. Dabei sollten auf jedem Testtablett Referenzstämme mitgeführt werden, um die Ergebnisse der verschiedenen Reaktionen kontrollieren zu können.

Dem Vorteil des im Prinzip dichotomen Differenzierungsschlüssels, d.h. Verwendung weniger aussagekräftiger Tests und damit eine relativ rasche und unkomplizierte Diagnostik, steht der Nachteil gegenüber, daß die falsche Anzeige bzw. falsche Beurteilung eines einzigen Tests zur Fehldiagnose führen kann, wie dies bei den untersuchten Referenz- und Feldstämmen in einigen Fällen deutlich wurde. Die Ursache kann sowohl in der Zusammensetzung des Nährmediums, in den Inkubationsbedingungen, in der subjektiven Beurteilung des Tests oder im inkonstanten Verhalten einiger Stämme liegen. Dementsprechende Beispiele wurden auf Seite 73 erläutert. Besonders hervorzuheben ist in diesem Zusammenhang das Vorkommen von "*Listeria* spp." und *Erysipelothrix*".

Für den Befund "*Listeria* spp." ist nachweislich die fehlende Sporenbildung einiger Stämme der Gattung *Bacillus* verantwortlich, so konnten "Listerien" bei einer Inkubationstemperatur von 37° C nicht mehr als solche oder nur noch vereinzelt identifiziert werden (siehe Abbildung 20 - 28). Der Befund "Erysipelothrix" hat die Ursache - wie sich im Laufe der Untersuchungen herausstellte - im Zusatz von Natriumthioglykolat zum HUGH-LEIFSON-Medium und der damit verbundenen Wachstumshemmung von Laktobazillen, die dadurch keinen fermentativen Glukoseabbau aufwiesen. Diese durch unterschiedliche Ursachen bedingten, sich notwendigerweise ergebenden Befunde wurden dennoch in die Tabellen und Abbildungen unter dem Gesichtspunkt einer wertfreien Darstellung aufgenommen, obwohl es selbstverständlich ist, daß die Befunde "*Listeria*" und "*Erysipelothrix*" in den entsprechenden Lebensmitteln unwahrscheinlich sind und keiner Plausibilitätskontrolle standhalten. Beide sind deshalb bewußt nicht in der Zusammenstellung der pathogenen Bakterien aufgeführt. Selbstverständlich sollten bei jeder bakteriologischen Analyse die Ergebnisse einer Plausibilitätskontrolle eines erfahrenen Mikrobiologen zugänglich bleiben, der die Wahrscheinlichkeit einer Diagnose kritisch beurteilt.

Zur Praktikabilität des MPT-Systems

Neben der o. a. Übereinstimmung werden nachstehend andere für die praktische Durchführung wichtige Kriterien zur Beurteilung des MPT-Systems herangezogen:

Zeitaufwand:

Die Handhabung des MPT-Systems kann der Dringlichkeit einer bakteriologischen Untersuchung angepaßt werden:

In Fällen, in denen eine schnellstmögliche Diagnose erforderlich ist, z.B. bei Lebensmittelvergiftungen, empfiehlt sich folgendes *procedere*:

Direkte Suspension der verdächtigen Kolonien zur Masterkultur im Mikrotiter-Tablett unter Umgehung der eintägigen Vorinkubation.

Soweit möglich Verwendung flüssiger Medien in den Test-tabletts.

Hierdurch kann der Untersuchungsgang um einen Tag reduziert werden. Dabei ist jedoch mit besonderer Sorgfalt auf die

Verhinderung einer gegenseitigen Kontamination der benachbarten Kulturen zu achten. Durch Zwischensterilisieren des Impfkopfes muß außerdem eine Verschleppung der flüssigen Medien verhindert werden.

Steht die Durchführung der Floraanalyse nicht unter Zeitdruck, ist die beschriebene Voranreicherung und die Verwendung fester Medien zu bevorzugen. Auch hierbei wird noch eine wesentliche Zeitersparnis gegenüber konventionellen Verfahren erreicht: Für die Überimpfung von 96 verschiedenen Kulturen - das Fassungsvermögen der Masterplatte - auf 7 verschiedene Medien beträgt der Zeitaufwand im Vergleich zum konventionellen System maximal 2 %. Bei der oft notwendigen Präparation für verschiedene Inkubationsbedingungen, z.B. Bebrütung im aeroben und anaeroben Milieu oder bei 25° C und 37° C bedeutet dies im konventionellen Verfahren eine Verdoppelung der Arbeitsstunden, im MPT-System dagegen nur wenige Minuten Mehraufwand.

Hinzu kommt die Zeitersparnis bei der Präparation der Teststättchen: Hierbei entspricht das Abfüllen eines Stättchens mit einer Nährbodenart - ca. 1/2 Minute - dem Ausgießen von 96 Petrischalen bzw. Abfüllen von 96 Reagenzröhrchen.

Materialaufwand und Kosten:

Die Materialersparnis des MPT-Systems beruht vor allem auf den minimalen Nährbodenmengen je "Kulturgefäß" (0,2 ml), die die gleichzeitige Untersuchung von 96 Stämmen ermöglichen. Dieses entspricht im konventionellen System 96 Reagenzröhrchen bzw. Petrischalen mit je 5 - 10 ml Medium. Allein auf die Substanzmenge bezogen liegt der Materialaufwand im miniaturisierten System zwischen 2 % - 4 %.

Bei der Gegenüberstellung der Kosten des Verbrauchsmaterials entspricht ein Mikrotiter-Stättchen 96 Reagenzröhrchen bzw. Petrischalen: Die Kostenersparnis ist somit offensichtlich.

Arbeitsaufwand:

Der aufwendigste Teil der Präparation im MPT-System ist die Gewinnung der Keimsuspension durch Zentrifugieren

der angereicherten Einzelkolonien und die anschließende Übertragung in die Masterplatte, ein Vorgang, der insgesamt ca. 1 Stunde erfordert. Die nachfolgende Überimpfung auf beliebig viele Testmedien ist im Gegensatz zum konventionellen Verfahren in wenigen Minuten durchführbar. Besonders hervor- gehoben sei auch das simultane Anlegen von bis zu 96 Gram- präparaten auf 4 nebeneinanderliegenden Objektträgern. Die Färbung erfolgt anschließend unter Verwendung der üblichen Reagenzien.

Im Gegensatz zur konventionell verwendeten "bunten Reihe" enthält 1 Testtablett jeweils nur 1 Reaktionssystem.

Die Praktikabilität des beschriebenen Systems resultiert neben dem geringen Zeit- und Materialaufwand überwiegend aus der Handlichkeit der Tablettts. Dies wiederum wirkt sich in einem minimalen Platzanspruch bei der Vorratshaltung und bei der Inkubation aus. Das Volumenverhältnis eines Gestells mit 96 konventionellen Reagenzröhrchen zu einem Mikrotiter- Tablett beträgt ca. 45:1.

Die mit Adhäsionsfolie verschlossenen Tablettts sind nach bisherigen Erfahrungen im Kühlschrank mehrere Wochen la- gerungsfähig.

Registrierung und Auswertung der Testergebnisse:

Die durch einen dem Medium beigefügten Farbindikator oder durch nachträgliche Zugabe eines Reagenz angezeigten Reak- tionen werden im MPT-System mit Hilfe eines Ablesespiegels vergrößert sichtbar gemacht und als Plus- und Minuswerte in einfachen Laborprotokollen eingetragen (s. Abb. 10). Bei der Untersuchung weniger Stämme kann die Identifizierung unter Verwendung eines Diagnoseschlüssels sofort erfolgen. Für die Auswertung vieler Stämme im Rahmen von Reihenunter- suchungen wie im vorliegenden Fall werden die Reaktionsergeb- nisse zusammen mit weiteren Probandaten auf abloCHFähige Pro- tokolle und anschließend in ein Datenbanksystem übertragen. Die Auswertung kann dabei, wie in Kap. 3.3 detailliert be- schrieben, auf verschiedenen Dimensionsebenen vorgenommen

werden. Die Identifizierung erfolgt durch den Vergleich der registrierten Daten mit der Kombination der obligatorischen Referenzwerte im Rechner.

Insgesamt gesehen liegt der Verbesserungsfaktor - unter Berücksichtigung der Ersparnis von Material, Arbeitszeit und Kosten - in einer Größenordnung von 1 bis 2 Zehnerpotenzen.

Zu den Ergebnissen der Floraanalyse von Milch und Milchprodukten

Mit dem methodischen Instrumentarium der Anreicherung und selektiven Anzüchtung pathogener Keime und dem Nachweis von Indikatorkeimen in konventioneller Weise einerseits sowie dem Einsatz des MPT-Systems mit Ergänzung durch das API 20 E-System andererseits wurden aus 160 Proben von Milch und Milchprodukten 2911 Stämme geprüft und davon 95,7 % identifiziert.

Pathogene Flora:

Von besonderem Interesse ist, daß obligat und fakultativ pathogene Keime durch die konventionellen Anreicherungs- und Züchtungsverfahren mit anschließenden Sekundärtests in 20 Proben und über das MPT-System mit anschließenden Sekundärtests in 37 Proben isoliert wurden. Die Aufschlüsselung nach Arten geht aus der folgenden Zusammenstellung hervor:

Keimarten	konvent. Verfahren	MPT-System
Staph. aureus	11	5
Sc. agalactiae	2	2
Sc. uberis	1	1
Ps. aeruginosa	6	3
Kleb. pneumoniae	-	4
Yers. enterocolitica	-	1
Bac. cereus	-	21

Es liegt im Prinzip der Salmonellenanreicherung, daß fakultativ pathogene Enterobacteriaceen wie Klebsiella, Yersinia etc. nicht ermittelt werden können. Sie werden also mit diesem System zwangsläufig übersehen.

Saprophytäre Flora:

Wenngleich die Anzahl der untersuchten Produkte (160 Proben Milch und Milcherzeugnisse) keineswegs als repräsentativ anzusehen ist, so ergibt die unter gleichen Bedingungen durchgeführte Floraanalyse doch vergleichbare Informationen über die unter den derzeitig herrschenden Umständen geltenden "ökologischen Normalwerte", d. h. die von der Eigenart des Produktes und seinen Aufbewahrungsbedingungen abhängige bakterielle Assoziation.

Betrachtet man die mit etwa 10 % und mehr an der Gesamtflora beteiligten Taxa, ergibt sich folgendes Bild:

Während sich in Rohmilch diese Flora aus Streptokokken, Enterobacteriaceen, Mikrokokken und Aeromonaden zusammensetzt, erweitert sich das Spektrum in Trinkmilch um coryneforme Keime, Pseudomonaden und aerobe Sporenbildner.

In Säuglingsnahrung und Trockenmilch besteht die Bakterienflora zu über 90 % aus Bazillen, Mikrokokken und Streptokokken.

In Quark, Joghurt, Butter, Schnittkäse und Hartkäse dominiert die zur Fermentierung verwendete Streptokokkenflora, begleitet von Laktobazillen, Mikrokokken und in unterschiedlichem Maße von aeroben Sporenbildnern und Hefen.

Eine qualitativ besonders reichhaltige Flora zeigt Weichkäse, wobei quantitativ Streptokokken und Enterobacteriaceen im Vordergrund stehen.

Im Schmelzkäse finden sich zu über 60 % aerobe Sporenbildner, gefolgt von Mikrokokken und Streptokokken.

Aus Speiseeis konnten zu ca. 40 % Streptokokken isoliert werden, die fast ausschließlich zur Gruppe der Enterokokken gehören. In der weiteren Reihenfolge wurden Mikrokokken, Enterobacteriaceen und Pseudomonaden gefunden.

Schlußfolgernd

läßt sich feststellen, daß das MPT-System in Verbindung mit selektiven Anreicherungs- und Züchtungsverfahren zum Nachweis pathogener Keime von Prinzip und Methodik her geeignet erscheint, im Rahmen umfassender Untersuchungen die bakterielle Flora von Milch und Milchprodukten zu beschreiben. Die Beweglichkeits- und Oxydase-Tests sowie die Prüfung auf Sporenbildung bedürfen noch einer weiteren Verbesserung.

Die bisher erzielten Ergebnisse lassen es sinnvoll erscheinen, auch Sekundärtests zur näheren Identifizierung pathogener Mikroben im Mikrotiter-System zu miniaturisieren. Für die Saprophyten ist dagegen eine weitere Identifizierung lebensmittelhygienisch nicht erforderlich; vielmehr ist bei diesen Keimarten die Messung ihrer lipo-, proteo- und glykolytischen Aktivität von Interesse, wofür heute geeignete Methoden zur Verfügung stehen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es

1. morphologische und physiologische Primärtestprinzipien (Gramverhalten, Beweglichkeit, Sporenbildung, Säurefestigkeit, Sauerstoffbedarf, Art des Glukoseabbaus, Nachweis von Katalase und Cytochromoxydase) im Mikrotiter-System zu miniaturisieren;
2. an Referenzstämmen und an aus Milch und Milchprodukten isolierten Bakterien-Stämmen eine Aussage darüber zu treffen, welche Sicherheit dieses Mikrotiter-Primärtest (MPT)-System gegenüber konventionellen Primärtest-Verfahren besitzt und
3. das MPT-System zur Floraanalyse von Milch und Milchprodukten einzusetzen.

ad 1)

Der Identifizierung der Bakterien lag das COWAN-STEEL-Schema zugrunde.

Die Durchführung der Primärtests im MPT-System basiert auf der Anzüchtung der Bakterien auf einer Blutplatte, die bis zu 48 Stunden bei 30° C inkubiert wird. Mit Hilfe eines Rasters werden z.B. 20 Einzelkolonien entnommen und direkt oder über die Zwischenschaltung einer Bouillonkultur zu einer Suspension für die "Masterplatte" aufbereitet. Das als Masterplatte verwendete Mikrotiter-Tablett enthält somit Suspensionen von bis zu 96 verschiedenen Stämmen und dient als Matritze für alle weiteren Subkultivierungen. Durch den Einsatz eines motorisch betriebenen Multiinokulators wird jede Stammsuspension in standardisierter Weise auf beliebig viele Testtablets transferiert, die jeweils ein spezifisches Reaktions- und Indikatorsystem repräsentieren (z.B. Beurteilung der Beweglichkeit, des biochemischen Leistungsspektrums, der Oxydase- und Katalasebildung, etc.) Jede der 96 Vertiefungen des bekannten Mikrotiter-Tabletts ist mit 0,2 ml des Testmediums gefüllt. Die Tablett sind in vorbereiteter Form mehrere Wochen im Kühlschrank lagerfähig.

Auch für die Gramfärbung läßt sich das System nutzen, indem anstelle der Testmedien vier nebeneinanderliegende Objektträger mit 0,6 µl jeder Keimsuspension betropft werden. Die Weiterbehandlung der Objektträger erfolgt dann konventionell.

Dieses System ermöglicht eine rasche und präzise Präparation einer Vielzahl von Testplatten, so daß ohne wesentlichen Mehraufwand diese bei verschiedenen Temperaturen inkubiert werden können. Durch die Miniaturisierung wird gegenüber der konventionellen Arbeitsweise der Aufwand an Material auf 2 % bis 4 %, der Platzanspruch auf etwa 2 % reduziert.

Die direkte Herstellung der Master-Stammssuspension, die Präparation der Platten und simultane Beimpfung mit dem Multiinokulator ermöglicht darüberhinaus eine Zeiterparnis von ca. einem Arbeitstag.

ad 2)

Anhand von 94 Referenzstämmen aus 8 verschiedenen Familien bzw. 52 Arten wurde die Sicherheit der Durchführung von Primärtests im MPT-System geprüft. Dabei fanden 13 Zeit-Temperatur-Kombinationen, beginnend mit 12^o C/24 Stunden bis zu 37^o C/48 Stunden, Verwendung.

Der Übereinstimmungsgrad zwischen den durch die Primärtest-Kombination im MPT-System gewonnenen Ergebnissen und den Referenzwerten reicht bei optimalen Inkubationsbedingungen in Abhängigkeit von den verwendeten Teststämmen von 54,3 % bis 100 %. Für die Einzeltests liegen die entsprechenden Werte - ohne Berücksichtigung der Testkeime - zwischen 75,4 % für den O/F-, 81,3 % für den Beweglichkeits-, 92,0 % für den Cytochromoxydase-, 94,7 % für den Sporenbildungs- und 97,6 % für den Katalase-Test.

ad 3)

Zur Prüfung des entwickelten Systems wurde die Bakterienflora in 160 Einzelproben aus 13 verschiedenen Erzeugnissen der Milchwirtschaft (Roh-, Trink-, Trockenmilch, Säuglingsnahrung, Quark, Weich-, Schnitt-, Hart- und Schmelzkäse,

Butter, Joghurt, Speiseeis) bestimmt. Neben der Floraanalyse im MPT-System wurden zusätzlich die Gesamtkeimzahl auf Plate-count-Agar und Blutplatte sowie der Colititer und die Enterokokkenzahl ermittelt. Der Identifizierung der Enterobacteriaceae diente das API-20 E-System. Zum spezifischen Nachweis pathogener Bakterien ist zudem die konventionelle Anreicherung auf Salmonellen, *S. aureus*, Streptokokken und *Ps. aeruginosa* herangezogen worden. Die Resultate der Floraanalyse zeigen, daß in den untersuchten Erzeugnissen insgesamt 20 verschiedene Bakterientaxa identifiziert werden konnten, deren qualitative und quantitative Verteilung in den einzelnen Produkten stark differieren. Dieser vergleichende Überblick vermittelt Hinweise auf die bakterielle Assoziation in Milch und Milchprodukten und ermöglicht Ansatzpunkte zur hygienischen Verbesserung bestimmter Erzeugnisse. Von besonderem Interesse ist, daß obligat und fakultativ pathogene Keime durch die konventionellen Anreicherungs- und Züchtungsverfahren mit anschließenden Sekundärtests in 20 Proben und über das MPT-System mit anschließenden Sekundärtests in 37 Proben isoliert wurden.

Insgesamt läßt sich feststellen, daß das MPT-System - in Verbindung mit selektiven Anreicherungs- und Züchtungsverfahren zum Nachweis pathogener Keime - von Prinzip und Methodik her geeignet erscheint, im Rahmen umfassender Untersuchungen die bakterielle Flora von Milch und Milchprodukten zu beschreiben.

SUMMARY

It was the objective of the present thesis

- 1) to miniaturize in the microtiter system morphological and physiological primary test principles (gram staining, mobility, spore-forming, acid-fastness, growth in air, kind of glucose degradation, detection of catalase and cytochromoxidase);
- 2) to give evidence of the degree of reliability of this microtiter primary test (MPT) system as compared with conventional primary test procedures by means of reference strains and bacteria isolated from milk and milk products; and
- 3) to use the MPT system in the analysis of the microflora of milk and milk products.

to 1)

The identification of bacteria was based on the COWAN-STEEL scheme.

The primary tests in the MPT system are based on the cultivation of bacteria on a blood agar-plate which is incubated for a period of time of up to 48 hours at a temperature of 30° C. A rastered template is used for the removal of for instance 20 single colonies from which a suspension is prepared for the "master plate" either directly or by the intermediate use of a broth culture. The microtiter plate used as master plate thus contains suspensions of up to 96 different strains and serves as matrix for all further subcultivations. A motor-driven multi-inoculator is used to transfer every stock suspension in a standardized way to whatever number of test tablets which represent specific reaction and indicator systems (e.g. judgement of mobility, range of biochemical activities, oxidase formation, catalase formation, etc). Each of the 96 cavities of the well-known microtiter plates is filled with 0.2 ml of the test medium. The prepared plates may be stored in refrigerator for several weeks.

The system may also be used for gram staining where instead of the test media four slides, being placed side by side, are charged with a 0.6 μ l drop of every suspension. The slides are then treated by the conventional way.

This system allows a great number of test tablets to be prepared rapidly and accurately, and these may be incubated at various temperatures without much more expenditure. Such miniaturization allows the material used to be reduced to 2 - 4 % and the space required to be decreased to 2 % as compared with the conventional mode for operation.

Moreover, the direct preparation of the master stock suspension, preparation of the plates and simultaneous inoculation with the multi-inoculator will yield time savings of the length of one working day.

to 2)

The reliability of primary test in the MPT system was tested by means of 94 reference strains of 8 different families and 52 species. 13 time-temperature combinations were used starting with 12⁰ C/24 hours up to 37⁰ C/48 hours.

The degree of accordance between the results obtained by primary test combinations in the MPT system on the one hand and the reference values on the other was found to range from 54.3 % to 100 %, this results applying to optimum conditions of incubation and in dependence on the test strains used. The respective figures for the individual tests, without taking into account the test organisms, are 75.4 % for the O/F-test, 81.3 % for the mobility test, 92.0 % for the cytochromoxidase test, 94.7 % for the spore forming test, and 97.6 % for the catalase test.

to 3)

In order to test the system developed, the bacterial flora was determined in 160 samples of 13 different dairy products (raw milk, market milk, milk powder, baby food, quarg, soft cheese, semi-hard cheese, and processed cheese as well as butter, yoghurt, and ice cream). Apart from the flora

analysis in the MPT system, the total number of bacteria was determined on plate count agar and blood agar-plate, and so were the coliforms and the number of enterococci. The API-20 E-system was used for the identification of enterobacteriaceae. Moreover, the conventional enrichment method was used for the detection of pathogens such as *Salmonella*, *S. aureus*, streptococci, and *Ps. aeruginosa*. In the flora analysis, 20 different bacterial taxa were identified the qualitative and quantitative distributions of which differed widely in the different products. This comparative survey provides an indication of the bacterial association in milk and milk products as well as starting points for the hygienic improvement of some definite products. It is of special interest that obligatory and facultative pathogens were isolated in 20 samples by means of the conventional enrichment and cultivation procedures with subsequent secondary tests, while this figure went up to 37 samples when the MPT system was used with subsequent secondary tests.

It may be concluded that the MPT system in conjunction with selective enrichment and cultivation procedures for the detection of pathogens appears to be suitable from the points of view of principle and methodics, to describe the bacterial flora of milk and milk products by means of a number of extensive examinations.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. ABD-EL-MALEK, Y. und GIBSON, T. Studies in the bacteriology of milk, III. The Corynebacteria of milk
Journal of Dairy Research (London) 19. 153 (1952)
2. ABD-EL-MALEK, Y. und GIBSON, T. Studies in the bacteriology of milk, IV. The gramnegative rods of milk
Journal of Dairy Research (London) 19. 294 (1952a)
3. ABO-ELNAGA, J.G. Der Einfluß der Hitzebehandlung auf den Bakteriengehalt der Milch
Milchwissenschaft 22. 561 (1966)
4. ABO-ELNAGA, J.G. Sporenbildner in der Anlieferungs-
milch
Milchwissenschaft 23. 559 (1968)
5. ABO-ELNAGA, J.G. Gasbildende Mikroorganismen in
kochsalzhaltiger Rohmilch
Milchwissenschaft 24. 11 (1969)
6. ABO-ELNAGA, J.G. Staphylokokkenvermehrung in ge-
salzener Rohmilch für die Her-
stellung von Salzlakenweißkäse
Milchwissenschaft 27. 583 (1972)
7. ABO-ELNAGA, J.G. Bacteria associated with slimy
surface defect of white cheese
Milchwissenschaft 29. 84 (1974)
8. ABO-ELNAGA, J.G. und KANDLER, O. Die Laktobazillenflora der Roh-
milch und des Stalles
Milchwissenschaft 20. 393 (1965)
9. ABO-ELNAGA, J.G. und KANDLER, O. Zur Kenntnis der Mikroflora der
Melkmaschinen
Milchwissenschaft 20. 660 (1965a)
10. ABO-ELNAGA, J.G. und KANDLER, O. Der Einfluß der Thermisierung und
Pasteurisierung auf die Lakto-
bazillenflora der Milch
Milchwissenschaft 20. 199 (1965b)

11. AEHNELT, E. Zur Vorbeuge der Pyogenes-Mastitis
bei Weiderindern mit Kontakt-
insektiziden
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift
62. 493 (1955)
12. AFANASIEVA, T.J.,
ALERGANT, A.P.,
BERDZULISHVILI, E.M. und
SEMENOVA, T.P. Biologische Eigenschaft von
Staphylokokken, die aus Milch-
produkten isoliert wurden (russisch)
Gigiena i Sanitarya (Leningrad)
38. 105 (1973)
13. ALBRECHT, D. Untersuchungen über das Vorkommen
von Pseudomonaden und Aeromonaden
in Milchviehställen
Veterinärmedizinische Dissertation
Hannover (1971)
14. ALLEN, V.D. und
STOVALL, W.D. Laboratory aspects of staphylococcal
food poisoning from Colby cheese
American Journal Public Health
50. 880 (1960)
15. ALMADEN, P.J. The mucoid phase in dissociation
of the gonococcus
Journal of Infectious Disease
(Chikago) 62. 36 (1938)
16. ANDERS, W. Der Typhusausbruch 1966 im Kreis
Altenkirchen
Bundesgesundheitsblatt 10. 118 (1967)
17. ANNIBALDI, S. Chemische und mechanische Reinigung
von Melkmaschinen (italienisch)
Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia
(Parma) 18. 287 (1967)
18. ARNOTT, D.R.,
DUITSCHAEVER, C.L. und
BULLOCK, D.H. Microbiological evaluation of
yoghurt produced commercially in
Ontario
Journal of Milk and Food Technology
37. 11 (1974)
19. BACIC, B. und
CLEGG, L.F.L. Studies on the sources of bacteria
in raw milk supplies
Milchwissenschaft 22. 615 (1967)

20. v. BAER, H.F. Zum Infektionsrisiko der Milchdrüse des Rindes in Abhängigkeit von strömungstechnischen Bedingungen in Melkanlagen
Veterinärmedizinische Dissertation Hannover (1971)
21. BALACESCU, C. Vergleichende bakteriologische Untersuchungen an Speiseeis unterschiedlicher Herstellungsverfahren
Milchwissenschaft 29. 274 (1974)
22. BARRITT, M.M. The intensification of the Voges-Proskauer-reaction by the addition of *p*-naphthol
Journal of Pathology 42. 441 (1936)
23. BASARAB, I.,
WERSCHING, P.,
PELLE, M.,
MORA, F. und
PELLE, R. Lebensmittelvergiftung mit Salm. typhimurium ausgelöst durch den Verzehr von Frischkäse (rumänisch)
Microbiologia, Parazitologia, Epidemiologia 9. 543 (1964)
24. BECK, G. und
MANTEL, T. Zur mikrobiologischen Untersuchung von Weichkäse
Vortrag, 16. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene 1974, Garmisch-Partenkirchen
Tagungsbericht S. 65
25. BERGEY's Manual
of Determinative
Bacteriology Eighth Edition, Williams und Wilkins Company, Baltimore (1974)
26. BEYTHIEN, V. Untersuchungen über den Einfluß der Wasserversorgung auf die hygienische Beschaffenheit der Milch im Erzeugerbetrieb
Veterinärmedizinische Dissertation Gießen (1969)
27. BIRSCHENK, H. Eine Lebensmittelvergiftung durch Salm. infantis im Speiseeis
Zeitschrift für die gesamte Hygiene und ihre Grenzgebiete 8. 383 (1962)
28. BLAIR, J.E.,
LENNETTE, E.H. und
TRUANT, J.P. Manual of clinical microbiology
Williams und Wilkins Company (1970)

29. BLUMENTHAL, A. Einige Beobachtungen zum hygienisch-bakteriologischen Zustand von pasteurisiertem Vollrahm
Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene 59. 257 (1968)
30. v. BOCKELMANN, I. Gesamtkeimzahl und psychrophile Bakterien in tiefgekühlter Milch
Milchwissenschaft 21. 275 (1966)
31. BOESE, W. Bakteriologische Speiseeis-Untersuchung und ihre Ergebnisse
Zeitschrift Hygiene 137. 286 (1953)
32. BOGE, A. Untersuchungen über verschiedene prädisponierende Faktoren für die Entstehung von Mastitiden
Veterinärmedizinische Dissertation Hannover (1965)
33. BONITZ, K. Salm. bareilly Epidemie durch Lebensmittelvergiftung im nord-deutschen Raum
Deutsche Medizinische Wochenschrift 78. 1412 (1953)
34. BROOKS, D.E.J. Enterokokken als Fäkal-Indikatoren bei Milchprodukten
XIX. International Dairy Congress B6 410 (1974)
35. BROWN, E.R.,
MOODY, M.D.,
TREECE, E.L. und
SMITH, C.W. Differential diagnosis of Bac. cereus, Bac. anthracis und Bac. cereus var. mycoides
Journal of Bacteriology (Baltimore) 75. 499 (1958)
36. BRUMMER, H.P. Beitrag zur Frage der Beziehungen zwischen Melktechnik und Euterkrankheiten
Veterinärmedizinische Dissertation München (1964)
37. BRYAN, C.S. und
BRYAN, P.S. The viability of certain udder infection bacteria in butter made from raw milk
Journal of Milk Technology 7. 65 (1944)
38. BULLING, E. Bakteriologische Untersuchungen an Säuglings- und Kindermilchpräparaten
Zeitschrift für Kinderheilkunde 82. 113 (1959)

39. BURBIANKA, M.,
ARTAMONOW, A., ELSNER, M.,
GABRIEL, A., GRZESIK, H.,
JEDRZEJOWSKA, H.,
JUCHNOWICZ, I.,
KOWALEWSKA, M.,
LICHOCINSKA, H.,
LUKAWSKA, Z., OSINSKA, M.
und SMYKAL, B. Bakteriologische Untersuchungen von
Milchpulver (polnisch)
Roczniki Panstwowego Zakladu
Higieny (Warschau) 18. 309 (1967)
40. BUSSE, M. Die Auswirkungen hoher Keimzahlen
Deutsche Molkerei-Zeitung 92. 39 (1971)
41. BUTTIAUX, R.,
OSTEUX, R.,
FRESNOY, R. und
MORIAEZ, J. Les propriétés biochimiques
caractéristiques du genre *Proteus*
Inclusion souhaitable des *Providencia*
dans celui-ci
Annales de l'Institut Pasteur (Paris)
87. 375 (1954)
42. CADNESS-GRAVES, G.,
WILLIAMS, R.,
HARPER, G.J. und
MILES, A.A. Slide-test for coagulase-positive
staphylococci
Lancet 250. 736 (1943)
43. CALCANIS, A. Bakteriologische Befunde bei der
Speiseeis-Untersuchung im Sommer
1961 in Düsseldorf
Gesundheitswesen und Desinfektion
54. 114 (1962)
44. CHRISTENSEN, W.B. Urea decomposition as a means of
differentiating *Proteus* and *Paracolon*
cultures from each other and from
Salmonella and *Shigella*
Journal of Bacteriology (Baltimore)
52. 461 (1946)
45. CIBLIS, E. Einfluß verschiedener Faktoren auf
die bakteriologische Beschaffenheit
und Haltbarkeit von pasteurisierter
Milch
Milchwissenschaft 20. 123 (1965)
46. CIBLIS, E. und
SCHWARZ, G. Bakteriologische Beschaffenheit und
Haltbarkeit von aus Magermilchpulver
und frischem Schlagrahm rekonsti-
tuierter Milch
Milchwissenschaft 17. 621 (1962)

47. CLARK, W.M. und
LUBS, H.A. The differentiation of bacteria
of the colon-aerogenes family by
the use of indicators
Journal of Infectious Disease
(Chikago) 17. 160 (1915)
48. CLARKE, P.H. und
COWAN, S.T. Biochemical methods for bacteriology
Journal General Microbiology
(London) 6. 187 (1952)
49. CLEMENS, W. und
KRÜGER, W. Isolation von Shigella sonnei
aus Sauerrahmbutter
Zeitschrift für die gesamte
Hygiene und ihre Grenzgebiete
18. 522 (1972)
50. COSTIN, J.D.,
WEIZBERGER, A.,
SCHIFTER, N. und
JONESCU, J. Staphylokokkentoxi-Infektion
durch Gefrorenes in einer
Konditorei
Zentralblatt Bakteriologie, Abt. I,
Referate 199. 222 (1965)
51. COUSINS, C.M. Disinfection in the production of
milk
Vortrag W.A.V.F.H.
Round Table Conference "Milk
Hygiene", Kiel 1975
52. COWAN, S.T. und
STEEL, K.J. Diagnostic table for the common
bacteria
Journal of Hygiene 59. 357 (1961)
53. COWAN, S.T. und
STEEL, K.J. Manual for the identification of
medical bacteria
Cambridge at the University Press
(1966)
54. COWAN, S.T. und
STEEL, K.J. Manual for the identification of
medical bacteria. II. Edition
Cambridge University Press (1974)
55. CROMBACH, W.H.J. Genetic, morphological and physio-
logical relationships among
coryneform bacteria
Wageningen: PUDOC 1974 43 S.
Agricultural research reports
824 (1974)

56. CSISZÁR, J. Die anaeroben Sporenbildner als Ursache der Schmelzkäseblähung
Milchwirtschaftliche Forschungs-
berichte 12. 485 (1931)
57. CULLEN, G.A. The ecology of *Sc. uberis*
British Veterinary Journal (London)
122. 333 (1966)
58. DARDZINSKI, K. Klinische und epidemiologische
Analyse von einer Staphylokokken-
Lebensmittelvergiftung verursacht
durch Speiseeis (polnisch)
Przegląd epidemiologiczny (Warschau)
19. 245 (1965)
59. DAVIS, J.G. Microbiological examination of
cream
Dairy Industries 34. 555 (1969)
60. DAVIS, J.G.,
ASHTON, T.R. und
McCASKILL, M. Enumeration and viability of *L.*
bulgaricus and *Sc. thermophilus*
in yoghurts
Dairy Industries 36. 569 (1971)
61. DELIS, C. Systematische Untersuchung über die
in pasteurisierter Milch vorkommen-
den Caseolyten unter besonderer
Berücksichtigung der Bestimmung und
ihrer Bedeutung für die Milchhalt-
barkeit
Veterinärmedizinische Dissertation
Hannover (1961)
62. DEMETER, K. Mikrobiologie der Butter
Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart (1956)
63. DEVOYOD, J.J.,
BRET, G. und
AUCLAIR, J. La flore microbienne du fromage de
Roquefort. I. Son évolution au cours
de la fabrication et de l'affinage
du fromage
Lait 48. 613 (1968)
64. DEVOYOD, J.J.,
DESMAZEAUD, M.,
ASSENAT, L.M. und
AUCLAIR, J.M. Les associations microbiennes dans
le fromage de Roquefort. IV. Action
inhibitrice des Microcoques
caseolytiques sur l'ouverture du
caille
Lait 52. 297 (1972)

65. DEVOYOD, J.J. und MILLET, L.
La flore microbienne du fromage de Cantal fabriqué à partir de lait cru. II. Les Staphylocoques Lait 54. 528 (1974)
66. DOBBERTIN, S. und SIEMS, H.
Die bakteriologische Beschaffenheit von Speiseeis
Archiv für Lebensmittelhygiene 26. 110 (1975)
67. DOMMETT, T.W.
Studies on coliform organisms in Cheddar cheese
Australian Journal of Dairy Technology 25. 54 (1970)
68. DOMMETT, T.W.
Variation in levels of coliform and Escherichia coli type 1 in Queensland Cheddar cheese
Australian Journal of Dairy Technology 29. 198 (1974)
69. DONNELLY, C.B., BLACK, L.A. und LEWIS, K.H.
Occurrence of coagulase-positive staphylococci in Cheddar cheese
Applied Microbiology 12. 311 (1964)
70. D'YAKONOVA, N.F.
Ein Fall einer Salmonella-Lebensmittelvergiftung (russisch)
Gigiena i Sanitariya (Leningrad) 27. 68 (1962)
71. EIGEL, G.
Mikroflora und Struktur des reifenden Camembert-Käse
Milchwissenschaft 3. 46 (1948)
72. EISENREICH, L.
Butter
aus SCHORMÜLLER, J.: Handbuch der Lebensmittelchemie III/1. Teil, S. 447
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1968)
73. ENGBRETSSEN, O.
Atypische Streptokokken bei boviner Euterentzündung. Serologische Klassifizierung und Resistenzbestimmung (schwedisch)
Nordisk Veterinärmedicin (Stockholm) 20. 557 (1968)
74. ENGBRETSSEN, O.
CAMP positive Aesculin-positive Streptokokken der Gruppe E isoliert aus Kantenmilchproben (schwedisch)
Nordisk Veterinärmedicin (Stockholm) 24. 309 (1972)

75. ENGBRETSSEN, O.,
KRØVEL, A. und
KROPINEN, E. L. Pilzmastitis bei Kühen (schwedisch)
Nordisk Veterinärmedicin (Stockholm)
24. 56 (1972)
76. ENHUBER, E. Staphylokokkeninfektionen nach
Speiseeiszugabe. Bericht über eine
Gruppenerkrankung
Öffentliches Gesundheitswesen
33. 393 (1971)
77. ENTSCHOFF, Str. Untersuchungen über den Hygiene-
zustand der durch Maschinen ermol-
lenen Milch (bulgarisch)
Wissenschaftliche Arbeit
Bulgarische Akademische Wissenschaft-
en, Abteilung für Landwirtschafts-
wissenschaften II. Band (1960)
78. ERDMANN, J. E. und
THORNTON, H. R. Psychrophilic bacteria in
Edmonton milk and cream
I. Numbers
Canadian Journal of Technology
29. 232 (1951)
79. ERDMANN, J. E. und
THORNTON, H. R. Psychrophilic bacteria in
Edmonton milk and cream
II. Kinds
Canadian Journal of Technology
29. 238 (1951a)
80. Ernährungsbericht
Deutsche Gesellschaft
für Ernährung Kapitel III, Hygienisch-toxikolo-
gische und mikrobiologische Aspekte
der Erzeugung, Verarbeitung,
Lagerung und Zubereitung von
Lebensmitteln in der Bundesrepublik
Ernährungsbericht 1976
(im Druck)
81. FARKHONDEH, A.,
GHAZVINIAN, R. und
LACHAL, P. Contamination par les Salmonella
du fromage iranien frais, non sale,
mis en vente dans la région de
Téhéran
Lait 54. 302 (1974)
82. FEILS, G. Zur Beurteilung des Zellgehaltes
und des Staphylokokkenbefundes
in Vorzugsmilch
Tierärztliche Umschau 21. 640 (1966)

83. FEILS, G. Über die Untersuchung von Sauer-
milch- (Mischmilch-) Erzeugnissen
Archiv für Lebensmittelhygiene
21. 252 (1970)
84. FILJAK, D. Quality of Yugoslav ice cream with
particular reference to that
manufactured by the "Zagrebacka
Mljekra" factory (jugoslawisch)
Mljekarstvo 19. 207 (1969)
85. FOLTZ, V.D.,
MICKELSEN, R.,
MARTIN, W.H. und
HUNTER, Ch.A. The incidence of potentially
pathogenic staphylococci in dairy
products of the consumer level
I. Fluid milk and fluid milk by-
products
Journal of Milk and Food Technology
23. 280 (1960)
86. FRANK, H. Mikrobiologie der Milch
aus SCHORMÜLLER, J.
Handbuch der Lebensmittelchemie
III/1. Teil, S. 65
Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-
New York (1968)
87. FRANK, W. Streptokokkendifferenzierung im
Rahmen des Eutergesundheitsdienstes
des Tiergesundheitsamtes Hannover
Archiv für Lebensmittelhygiene
20. 11 (1969)
88. FROMM, G. und
STRAHTMANN, U. Keimgehalte von Säuglings- und Klein-
kindernahrungen, Stärkungsmitteln
und Tiefkühlgemüsen - eine Ver-
gleichsuntersuchung
Deutsche Lebensmittelrundschaу
66. 1 (1970)
89. FROMME, W. Kakaomilchepidemie in Hagen und
Herne
Städtehygiene 7. 97 (1956)
90. FRYER, T.F.,
SHARPE, M.E. und
REITER, R.B. The microflora of Cheddar cheese
made aseptically from milk containing
a standard raw milk reference flora
XVII. International Dairy Congress
D 1 61 (1966)

91. FUCHS, A. Die Infektion der Käseereibutter mit Fremdorganismen durch die Molkereigeräte und das Betriebswasser unter besonderer Berücksichtigung des Fettspaltungsvermögens der vorkommenden Mikroflora
Dissertation, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich (1949)
92. FUNG, D.Y. Evaluation of an automatic Gram staining machine
Journal of Milk and Food Technology 38. 262 (1975).
93. FUNG, D.Y. und HARTMANN, P.A. Miniaturized microbiological techniques for rapid characterization of bacteria
aus: New approaches to the identification of microorganisms
Edited by C.G. HEDEN and T. ILLEIN
Copyright 1975 by John Wiley & Sons, Inc.
Kapitel 21, 349 (1975)
94. FUNG, D.Y. und PETRISHKO, D.T. Capillary tube catalase test
Applied Microbiology 26. 631 (1973)
95. FUTSCHIK, J. Die bakteriologische Beschaffenheit der Anlieferungsmilch in Abhängigkeit von dem Zustand der Gebrauchswasser auf dem Bauernhof
Österreichische Milchwirtschaft 13. 97 (1958)
96. GABY, W.L. und HADLEY, C. Practical laboratory test for the identification of *Pseudomonas aeruginosa*
Journal of Bacteriology (Baltimore) 74. 356 (1957)
97. GALESLOOT, Th.E. Über anaerobe Sporenbildner, die das Verderben von Schmelzkäse verursachen (holländisch)
Nederland Melk en Zuiveltijdschrift 15. 263 (1961)
98. GALESLOOT, Th.E. und STADHOUDERS, J. The microbiology of spray-dried milk products with special reference to *Staphylococcus aureus* and *Salmonellae*
Nederland Melk en Zuiveltijdschrift 22. 158 (1968)

99. GEIGES, O. Quantitative und qualitative Untersuchungen über die Bakterienflora der Melkmaschinen
Dissertation technische Wissenschaften, Zürich (1972)
100. GHONIEM, N.A.M. Incidence of *Corynebacterium* group in Damietta cheese
Archiv für Lebensmittelhygiene 22. 230 (1971)
101. GIANUZZO, E.,
BERZERO, R.,
TOGNACCA, M.L. und
CAMPANA, C. Über den Ausbruch einer bakteriellen Lebensmittelvergiftung durch *Salm. typhimurium*
Zentralblatt für Bakteriologie I. Referate 213. 490 (1968)
102. GIFFEY, H.J. Ein Beitrag zur hygienischen Beschaffenheit der im Raume Mecklenburgs hergestellten Trockenmilchen
Veterinärmedizinische Dissertation Berlin, Humboldt-Universität (1963)
103. GILLES, G.,
JOUGLARD, J. und
SEBALD, M. The epidemiology of human botulism. Investigation and aetiological hypothesis, possible role of cheese and straw
Bulletin de l' Académie Vétérinaire de France 47. 165 (1974)
104. GILLIES, J.A. Significance of thermophilic organisms in Queensland Cheddar cheese
Australian Journal of Dairy Technology 26. 145 (1971)
105. GILLIES, R.R. An evaluation of two composite media for preliminary identification of *Shigella* and *Salmonella*
Journal of Clinical Pathology (London) 9. 368 (1956)
106. GLAWATZ, K. und
BRAUNE, J.F. Beobachtungen bei einer Typhusepidemie
Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten 130. 413 (1949/50)

107. GOEL, M.C.,
KULHRESTHA, D.C. und
MARTH, E.H.
Fate of coliforms in yoghurt,
buttermilk, sour cream and
cottage cheese during refrigerated
storage
Milk and Food Technology 34. 54
(1970)
108. GOSH, S.S. und
LAXMINARAYANA, H.
Enterotoxigenic staphylococci
in milk and milk products
Indian Journal of Animal Sciences
42. 492 (1972)
109. v. GRABE, A.
Die Pyogenes-Mastitis beim Rind
im Landkreis Lüneburg in den
Jahren 1964 und 1965
Veterinärmedizinische Dissertation
Hannover (1969)
110. GREER, D.O. und
PEARSON, J.K.L.
Streptococcus agalactiae in dairy
herds. Its incidence and rela-
tionship to cell count and
inhibitory substance levels in
bulk milk
British Veterinary Journal
129. 544 (1973)
111. GROSSBERGER, H.H.
Zur experimentellen Gewinnung
steriler Rohmilch über ein
implantiertes Kathetersystem
Veterinärmedizinische Dissertation
Freie Universität Berlin (1971)
112. GUDKOV, A.V.
Anaerobe Sporenbildner in Milch,
Milchprodukten und Silage (russisch)
Prikladnaya Biokhimiya i
Mikrobiologiya 4. 60 (1968)
113. GUHT, H.F.
Über die Probleme der Schmelzkäse-
herstellung mit besonderer Berück-
sichtigung der bakteriologischen
Belange
Milchwissenschaft 9. 345 (1954)
114. HAHN, G.,
HEFSCHEN, W.,
REICHMUTH, J. und
TOLLE, A.
Wechselbeziehungen zwischen
Infektionen mit Streptokokken
der serologischen Gruppe B bei
Mensch und Rind
Fortschritte der Veterinärmedizin
9. Kongreßbericht 189 (1972)

115. HALL, H.E.,
BROWN, D.F.,
ROBINSON, H.M.,
DONNELLY, C.B. und
REYES, A.L.
Bacteriological examination of
grade A dry milk powder
Journal of Milk and Food
Technology 30. 219 (1967)
116. HALLMANN, L.
Bakteriologie und Serologie
3. Auflage
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
(1961)
117. HAMMER, B.W. und
BABEL, F.J.
Dairy Bacteriology
4. Auflage, John Wiley and Sons Inc.,
New York (1957)
118. HASHIMOTO, H.
Recent incidence of enterococci
in dried milk in Japan
Dairy Science Abstract
31. 209 (1968)
119. HAUSLER, W.J.
Standard methods for the exami-
nation of dairy products
13. Auflage
American Public Health Association,
Washington (1972)
120. HAUSLER, W.J.,
BYERS, E.J.,
SCARBOROUGH, L.C. und
HENDRICKS, S.L.
Staphylococcal food intoxication
due to Cheddar cheese
II. Laboratory evaluation
Journal of Milk and Food
Technology 23. 1 (1960)
121. HEESCHEN, W. und
MEYER, A.
Untersuchungen über biochemische
Eigenschaften und serologische
Gruppenzugehörigkeit von Mastitis-
streptokokken
Berliner und Münchener Tierärzt-
liche Wochenschrift 78. 269 (1965)
122. HENRIKSEN, S.D.
A comparison of the phenylpyruvic
acid reaction and the urease test
in the differentiation of Proteus
from other enteric organisms
Journal of Bacteriology (Baltimore)
60. 225 (1950)
123. HOFMANN, G.,
RICHTER, W. und
KÖHLER, G.
Orientierende Untersuchung über
das Vorkommen von Hefen im Euter
gesunder und mastitiskranker
Rinder in Syrien
Berliner und Münchener Tierärzt-
liche Wochenschrift 81. 259 (1968)

124. HOLMAN, W.L. und
GONZALES, F.L. A test for indol based on the
oxalic reaction of Gnezdá
Journal of Bacteriology (Baltimore)
8. 577 (1923)
125. HOSTELLER, H. Sauermilch
aus SCHORMÜLLER, J.
Handbuch der Lebensmittelchemie
Band III/1. Teil, S. 407
Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-
New York (1968)
126. HUCKER, G.J. Further studies on the method
of gram staining
New Jersey Agricultural Experiment
Station, Technical Bulletin
128 (1927)
127. HUGH, R. und
LEIFSON, E. The taxonomic significance of
fermentative versus oxidative
metabolism of carbohydrates by
various GRAM negative bacteria
Journal of Bacteriology (Baltimore)
66. 24 (1953)
128. HUGH, R. und
RYCHENKOW, E. Pseudomonas maltophilia, an
Alcaligenes like species
Journal of General Microbiology
(London) 26. 123 (1961)
129. HUGHES, D.L. Some epidemiological patterns
in bovine mastitis
Veterinary Record 72. 485 (1960)
130. IDF-Standard Colony count of liquid milk and
dried milk
3/1958
131. IDF-Standard Count of contaminating organisms
in butter
30/1964
132. IDF-Standard Ice-cream and milk ices: Count
of coliform bacteria
62/1971
133. IDF-Standard Dried milk and dried whey:
Count of coliforms
64/1971
134. IDF-Standard Fermented milks: Count of
coliforms
65/1971

135. IDF A monography on bovine mastitis
Part I
Annual Bulletin (1971)
136. IDF Proceedings of seminar on
mastitis control 1975
Bulletin 1975 Document 85
(1975)
137. IENISTEA, C.,
CHITU, M. und
ROMAN, A. Das Vorkommen koagulase-positiver
Staphylokokken in einigen Nahrungs-
mitteln tierischer Herkunft (rumänisch)
Ighena (Bukarest) 20. 179 (1971)
138. IENISTEA, G. und
IONESCU, C. Sulfitreduzierende Clostridien
bei der Qualitätseinschätzung
von pasteurisierter Milch (rumänisch)
Ighena (Bukarest) 16. 207 (1967)
139. IKONOMOV, L. Untersuchung der Coliformen in
leichtverderblichen Milcherzeug-
nissen (bulgarisch)
Veterinarnomeditsinski Nauki
(Sofia) 11. 47 (1974)
140. IONESCU, G., IENISTEA, C.,
IONESCU, C., IGATESCU, N.,
MANT, T. und MANU, V. Vorkommen von Bac. cereus in roher
und pasteurisierter Milch (rumänisch)
Microbiologia, Parazitologia,
Epidemiologia (Bukarest)
11. 423 (1966)
141. IORDANOV, M., ZLATEN, J.,
SLAVKOV, J. und
DELICHEV, K. Nachweis von Salmonellen in
Butter (bulgarisch)
Investica na Mikrobiologicheskia
Institut (Sofia) 5. 277 (1954)
142. JACQUET, J. und
COIFFOIER, O. Coliforms in soft cheeses
Comptes Rendus des Seances de la
Societe de Biologie et de ses
Filiales 167. 39 (1973)
143. JACQUET, J., RICHOU, R.,
STEEG, L., GERBEAUX, P. J.,
und GERBEAUX, C. Sur les caracteres et les
proprietes des microcoques de la
flore normale de la vache
Compte Rendu Hebdomadaire des
Seances de l'Académie une des
Sciences (Paris) 234. 255 (1952)

144. JEFFRIES, C.D. Urease activity of intact and disrupted bacteria
Archiv für Pathologie 77. 544 (1964)
145. JELINKOVA, J. und HEESCHEN, W. B-Streptokokken bei Mensch und Tier, I. Mitteilung: Ergebnisse serologischer Typisierung
Zentralblatt für Bakteriologie I. Originale 209. 315 (1969)
146. JENKINS, H.R. und HENDERSON, R.J. The source of bacteria in fresh cream, and the methylene blue reduction test as a guide to hygienic quality
Journal of Hygiene (London) 67. 401 (1969)
147. JOHNSTON, K.G., LEPHERD, E.E. und LUTZ, P. Bovine mastitis in the Camden district of New South Wales
Australian Veterinary Journal 42. 405 (1966)
148. KÄSTLI, P. Milchkunde und Milchhygiene II. Teil Milchfehler
Buchverlag Verbandsdruckerei AG, Bern (1963)
149. KATONA, F. Milchhygienische Untersuchungen in den mit Rohrmelkanlagen ausgestatteten Milchviehwirtschaften
Internationales Symposium des RGW, Polen, 5./7.9.1968
150. KEOGH, B.P. Bacteriological quality of milk products
Australian Journal of Dairy Technology 25. 35 (1970)
151. van KERKEN, A.E. und KANDLER, O. Die Laktobazillenflora des Tilsiter Käses
Milchwissenschaft 21. 436 (1966)
152. Mc KINON, C.H., COUSINS, C.M. und FULFORD, R.J. An in-line milk sampler for determining the number of bacteria derived from the teat surfaces and udder infections of cows milked in recorder machines
Journal of Dairy Research 40. 47 (1973)

153. KIELWEIN, G. Feststellung und Bewertung von Pseudomonaden in Milch
Archiv für Lebensmittelhygiene
19. 25 (1968)
154. KIELWEIN, G. Ein Nährboden zur selektiven Züchtung von Pseudomonaden und Aeromonaden
Archiv für Lebensmittelhygiene
20. 131 (1969)
155. KIELWEIN, G. Milchhygiene - auch eine wirtschaftliche Notwendigkeit
Alimenta (Sonder-Nr.1) 9. 39 (1970)
156. KIELWEIN, G. Pseudomonaden und Aeromonaden in Trinkmilch: Ihr Nachweis und ihre Bewertung
Archiv für Lebensmittelhygiene
22. 15 (1971)
157. KIELWEIN, G. Die Isolierung und Differenzierung von Pseudomonaden aus Lebensmitteln
Archiv für Lebensmittelhygiene
22. 29 (1971a)
158. KIELWEIN, G. Die Bedeutung von Ps. fluorescens und von anderen gramnegativen Bakterien für die Entwicklung eines üblen Geruchs bei Emmentaler Käse ("Aerobierfäulnis")
Deutsche Molkerei-Zeitung 96. 1112 (1975)
159. KIERMEIER, F. und LECHNER, E. Milch und Milcherzeugnisse
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg (1973)
160. KIKUCHI, T. Observation on Camembert cheese ripening
XVII. International Dairy Congress
D 2 313 (1966)
161. KIRSANOV, G.P. Medium für die Bestimmung von Anaerobiern in Milch und Milchprodukten (russisch)
Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya 7. 728 (1971)
162. KLEEBERGER, A. Die Enterobakterien der Milch unter besonderer Berücksichtigung von irregulären Formen
International Dairy Congress
ID 151 (1970)

163. KNIGHT, B.C.J.G. und
PROOM, H. A comparative survey of the
nutrition and physiology of
mesophilic species in the genus
Bacillus
Journal of General Microbiology
4. 508 (1950)
164. KÖNNING, B. Erhebungen zum Vorkommen einiger
hygienisch und gesundheitlich
bedenklicher Keime in Trocken-
milchprodukten
Veterinärmedizinische Dissertation
Hannover (1972)
165. KÜTSCHKE, W. Beitrag zur Epizootologie der
Pyogenes-Mastitis des Rindes
in Thüringen
Monatshefte für Veterinärmedizin
17. 297 (1962)
166. KOHNECHAHRI, M.,
MALEKI, M,
FARKHONDEH, A. und
GHAZVINIAN, R. Dénombrement des germes totaux
et des bactéries coliformes des
crèmes consommées dans la région
de Téhéran et détermination du
taux de contamination de ces
crèmes en staphylocoques coagu-
lase positive
Lait 52. 355 (1972)
167. KOONTZ, F.B. und
FABER, J.E. A taxonomic study of some
GRAM-negative, nonfermenting
bacteria
Canadian Journal of Microbiology
9. 499 (1963)
168. KOROLJOWA, N.S. Mikrobiologie der Sauermilch-
produkte
3. Internationale Milchwirt-
schaftliche Fachtagung der DDR,
Berlin (1964)
169. KORTH, H. Über einen chinasaurehaltigen
Nährboden zur Differenzierung
und Anreicherung von Ps. aeruginosa
Zentralblatt für Bakteriologie
I. Originale 190. 225 (1963)
170. KOSCHUCHAROFF, B. und
STAWREFF, J. Eine durch Speiseeis hervor-
gerufene Flexner-Ruhr-Epidemie
Zentralblatt für Bakteriologie
I. Originale 194. 193 (1964)

171. KOSER, S.A. Utilization of the salts of organic acids by the colon-aerogenes group
Journal of Bacteriology (Baltimore) 8. 493 (1923)
172. KOVÁCS, N. Identification of *Ps. pyocyanea* by the oxidase reaction
Nature 178. 703 (1956)
173. KOVÁCS, N. A micro method for detecting indol formation
Journal of Clinical Pathology (London) 12. 90 (1959)
174. KOWALCZYK, S. Aussagekraft des CAMP-Tests beim Nachweis von *Sc. agalactiae* (polnisch)
Medycyna Weterynaryjna (Warschau) 19. 468 (1963)
175. KOWALCZYK, S. und ZABOLICKY, K. Über die Resistenz der aus Milch gezüchteten Staphylokokken und Streptokokken gegenüber einigen Antibiotika
Internationales Symposium des RGW Polen 5./7.9.1968
176. KRAMPE, F. Erhebungen zur mikrobiologischen Beschaffenheit von Trockenmilchprodukten
Veterinärmedizinische Dissertation Hannover (1972)
177. KRASMINSKAJA, E.S. Staphylokokkelebensmittelvergiftungen in der RSFSR (russisch)
Gigiena i Sanitariya 25. 74 (1960)
178. KRISTENSEN, J.M. Development of various bacteria in Danbo cheese
XVIII. International Dairy Congress E 1 363 (1970)
179. KRONISH, D.P. Erforschung und Entwicklung von Reagenz imprägnierten Teststreifen für die Identifizierung von Mikroorganismen
Archiv für Lebensmittelhygiene 26. 20 (1975)
180. KUHN, J. Zum Vorkommen von koagulasepositiven Staphylokokken und Enterotoxinen in sauren Milchprodukten
Veterinärmedizinische Dissertation München (1974)

181. KULLER, H.-J. Die Pyogenes-Mastitis (Holsteinsche Euterseuche) im Raum Berlin Monatshefte für Veterinärmedizin (Sonderheft 1) 18. 33 (1963)
182. KUNDRAT, W. Zur Bekämpfung der Spätblähung bei Hartkäsen auf biologischem Wege Alimenta 4. 133 (1971)
183. KUNDRAT, W. Bakterienentwicklung und Reifungsbedingungen beim Camembert Käse Deutsche Molkerei-Zeitung 72. 1122 (1951)
184. KUNTER, E. Untersuchungen über die Gruppenzugehörigkeit der im Einzugsbereich des VU-TGA Dresden bei Mastitiden des Rindes vorkommenden Streptokokken Plan-Nr. 83112015-16/3 Abschlußbericht 11/5 (1966)
185. KURMANN, J. Mikrobiologische Untersuchungen bei der Reifung des pasteurisierten St. Paulin-Käses Schweizerische Milch-Zeitung Wissenschaftliche Beilage Nr. 45 83. 353 (1957a)
186. KURMANN, J. Untersuchungen über die Milchsäuregärung im pasteurisierten St. Paulin-Käse Deutsche Molkerei-Zeitung 78. 1146 (1957)
187. KURZWEIL, R. und BUSSE, M. Untersuchung des Einflusses neuzeitlicher Stalltypen auf die Bakteriologie der Milchgewinnung Bayerisches Landwirtschaftliches Jahrbuch 50. 899 (1973)
188. KURZWEIL, R. und BUSSE, M. Keimgehalt und Florazusammensetzung der frisch ermolkenen Milch Milchwissenschaft 28. 427 (1973a)
189. LEGLER, F., BURKARDT, F. und WENDRICH, W. Staphylococcus aureus in Camembert Käse als Ursache von Lebensmittelvergiftungen Öffentlicher Gesundheitsdienst 19. 198 (1957)

190. LEIFSON, E. An improved reagent for the acetyl-methyl-carbinol-test
Journal of Bacteriology (Baltimore) 23. 353 (1932)
191. LEIFSON, E. Determination of carbohydrate metabolism of marine bacteria
Journal of Bacteriology (Baltimore) 85. 1183 (1963)
192. de LEY, J. Studies on the metabolism of Acetobacter peroxydans, Part I, General properties and taxonomic position of the species.
Antonie van Leeuwenhoek 24. 281 (1958)
193. LOCHMANN, E. H. Über das Vorkommen der Dyspepsiecoli-Typen O111:84 und O55:35 in Vorzugsmilch, zugleich ein Überblick über das gesamte Coli-Problem
Veterinärmedizinische Dissertation Hannover (1953)
194. LORENZEN, P. Zum Vorkommen von Streptokokken verschiedener Gruppen als Mastitiserreger unter besonderer Berücksichtigung der Gruppe L
Archiv für Lebensmittelhygiene 19. 57 (1968)
195. LÜBENAU-NESTLE, R. und MAIR-WALDBURG, H. Zur Bakteriologie des Cheddar (Chester) - Eine Literaturübersicht
Deutsche Molkerei-Zeitung 36. 1319 (1965)
196. LÜBENAU-NESTLE, R. und MAIR-WALDBURG, H. Bakteriologie der Käse aus SCHORMÜLLER, J., Handbuch der Lebensmittelchemie Band III/1. Teil, S. 644
Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1968)
197. LUKASOVA, J. und VAVROVA, M. Lipolytic activity of staphylococci isolated from milk products
Zentralblatt für Bakteriologie II 129. 278 (1974)

198. MAIER, P. Über die Verbreitung von Euter-entzündungen beim Rind unter besonderer Berücksichtigung von Stallhygiene und Melktechnik Veterinärmedizinische Dissertation München (1964)
199. MAIR-WALDBURG, H. Käse-Herstellung aus SCHORMÜLLER, J. Handbuch der Lebensmittelchemie Band III/1. Teil, S. 534 Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1968)
200. MAIR-WALDBURG, H. und STURM, W. Technologische Eignung der verschiedenen Schmelzsalze Jahresbericht 1957 Kempten 14 (1957)
201. MALAKI, M., HASHEMY, S. E. und HAIENI, P. Investigation of contaminating organisms associated with hand-made ice cream supplied in Teheran Revue Facultad Veterinary University, Teheran 25. 15 (1970)
202. MANOKLIDIS, C. S., VASSILIADOU, D. und TZANETAKIS, E. Research on coliform organisms in Teleme cheese Hemika Hronika 39. 21 (1974)
203. MANTRE-ALHONEN, S. Microbacteria in double pasteurized milk Milchwissenschaft 24. 488 (1969)
204. MARIER, R., WELLS, J. G., SWANSON, R. C. An outbreak of enteropathogenic Escherichia coli food born disease traced to imported fnch cheese Lancet 7842. (2) 1376 (1973)
205. MARTI, F. Bakteriologisch bedingte Lebensmittelvergiftungen (Praktische Erfahrungen im Kanton Bern) Alimenta 12. 171 (1973)
206. MARTIN-WEDARD, A. Enterokokken in pasteurisierter Milch (italienisch) Igiene e sanita publica 21. 85 (1965)

207. MARTINETTO, P. und
PANIZZA, D.
Outbreak of food poisoning
caused by Salm. typhimurium of
unusual origin
Igiene moderna 61. 887 (1969)
208. MATHUR, T.N.
An outbreak of food poisoning
in a family due to Salmonella
weltevreden
Indian Journal of Medical Research
47. 367 (1959)
209. MAURER, L.
Die Bedeutung der Propionibak-
terien in der mikrobiellen
Technologie
Österreichische Milchwirtschaft,
Wissenschaftliche Beilage 29. 1
(1974)
210. MILLER, J.
Psychrotrophe Streptokokken,
Milchwissenschaft 21. 266 (1966)
211. MILLET, L.,
MELCION, D. und
DEVOYOD, J.J.
La flore microbienne du fromage
de Cantal fabriqué a partir de
lait cru
I. Techniques d'etudes et
resultats preliminaires
Lait 54. 397 (1974)
212. MINOR, T.E. und
MARTH, E.H.
Growth of Staphylococcus aureus
in acidified pasteurized milk
Journal of Milk and Food Tech-
nology 33. 516 (1970)
213. MINOR, T.E. und
MARTH, E.H.
Staphylococcus aureus and staphy-
lococcal food intoxications. A
review. The staphylococci: charac-
teristics, isolation and behaviour
in artificial media
Journal of Milk and Food Techno-
logy 34. 557 (1971)
214. MINOR, T.E. und
MARTH, E.H.
Staphylococcus aureus and
staphylococcal food intoxications
A review. III. Staphylococci in
dairy foods
Journal of Milk and Food Tech-
nology 35. 77 (1972a)

215. MINOR, T.E. und
MARTH, E.H. Staphylococcus aureus and
staphylococcal food intoxications
A review. II. Enterotoxins and
epidemiology
Journal of Milk and Food Tech-
nology 35. 21 (1972)
216. MOELLER, H. Über eine neue Methode der
Sporenfärbung
Zentralblatt für Bakteriologie I.
10. 273 (1891)
217. de MOOR, C.E. und
VISSER, A.M. Streptococcus uberis (holländisch)
Mededelingen betr. de
Volksgezondheit 1 (1960)
218. MOSSEL, D.A.A. und
INDACOCHEA, L. A new cetrimide medium for the
detection of Pseudomonas aerugi-
nosa
Journal of Medical Microbiology
4. 380 (1971)
219. National Center for
Disease Control Staphylococcal food poisoning
traced t butter
- Atlanta
Morbidity Mortality 19. 271 (1970)
220. NENKOV, M. Vorkommen von enteropathogenen
E. coli in Milch und Milch-
produkten (bulgarisch)
Veterinarnomeditsinski Nauki
11. 79 (1974)
221. NEUMANN, H.J. und
SEELIG, G. Bacterium pyocyaneum (Pseudo-
monas aeruginosa) als Mastitis-
erreger
Praktischer Tierarzt 9. 245 (1956)
222. NEUNDORF, R. Zum gegenwärtigen Stand des
Mastitisproblems
Monatshefte für Veterinärmedizin
(Sonderheft 1) 18. 25 (1963)
223. NEVET, A.,
MOCQUOT, G.
LAFONT, P. und
PLOMMET, M. Recherches sur les conditions
de survie des bacteries patho-
gènes dans les fromages a pate
molle
Annales de l'Institut Pasteur
(Paris) 103. 128 (1963)

224. NIKHINSON, L.M.,
BASKOVICH, T.L.,
GORODETSKAYA, V.M. und
SHVETS, T.I. Untersuchungen zur Kontamination
von Milch und Milchprodukten mit
pathogenen coliformen Keimen
(russisch)
Gigiena i Sanitariya (Leningrad)
27. 65 (1962)
225. NIKODEMUSZ, J. Über die Gefahren der Speiseeis-
Vergiftungen
Aufklärung für Gesundheitswesen
6. 131 (1965)
226. NILSSON, P.O. und
THÖRNE, M. Pseudomonasmastitens frekuens
(schwedisch)
Nordisk Veterinaermedicin
(Stockholm) 15. 239 (1963)
227. NURMI, E.V. und
KOIRANEN, L. Übersicht bakteriologischer Ergeb-
nisse von Mastitismilchproben
(schwedisch)
Nordisk Veterinaermedicin
(Stockholm) 19. 36 (1967)
228. NYSTRÖM, K.G.,
KARLSON, K.A. und
MENTZING, L.O. Ausbruch einer Salm. dublin
Infektion bei Rindern und Menschen
im Nordkalinar-Gebiet, 1963
(schwedisch)
Nordisk Veterinaermedicin
(Stockholm) 16. 697 (1964)
229. OLSON, J.C. Hygenic aspects of milk and
payment for quality
Milk and Food Technology 25. 355
(1962)
230. O'MEARA, R. A simple delicate and rapid
method of detecting the formation
of acetylmethylcarbinol by bacteria
fermenting carbohydrates
Journal of Pathology and Bac-
teriology 34. 401 (1931)
231. OVEJERO del AGUA, S. und
SUAREZ FERNANDEZ, G. Recherche de staphylocoques
pathogènes dans du lait en poudre
Lait 51. 294 (1971)
232. PAGARIA, M.L. und
SARASWAT, D.S. Studies on the bacteriological
quality of ice-cream in India
Australian Journal of Dairy
Technology 24. 200 (1969)

233. PAPA VASSILIOU, J. B. anitratum (B5 W) in pasteurisierter Milch in England Iatrike 523 (1955)
234. PAPA VASSILIOU, J. Aerobe Sporenbildner. Eine Studie über die aus pasteurisierter Milch isolierten Stämme (griechisch) Acta Microbiologica Hellenica (Athen) 1. 255 (1956)
235. PAPA VASSILIOU, J.,
DIMITRACOPOVLOS, G. und
ECONOMOU-STAMATELO-
POULOU, C. Recherche sur les bacteries coli-forms du yogourt en Grèce Alimenta 12. 151 (1973)
236. PAPA VASSILIOU, J. und
OBIGER, G. Über das Vorkommen und das Phagenbild von koagulasepositiven Staphylokokken in Milch Zentralblatt für Bakteriologie I. Originale 175. 505 (1959)
237. PARK, C.E.,
TODD, E.C.D.,
PURVIS, U. und
LAIDLEY, R. Disease traced to cheese Lancet 7849. (1) 172 (1974)
238. PETTE, J.W. Das Verderben der Milch Wissenschaftliche Veröffentlichung der Deutschen Gesellschaft für Ernährung 8. 70 (1962)
239. PETRICA, L.,
PAMBUCOL, Z.,
ROSU, A. und
JONESCU, E. Mikroflora des Telemea Käses (bulgarisch) Lucrari Stiintifice Institutul Agronomic Timiscara, Seria Medicina Veterinara 11. 341 (1968)
240. PLANINC, F. und
MILOHNOJA, M. The fate of the microbial population of milk powder during storage The microbiology of dried foods Proceedings 6. International Symposium Food Microbiology, Bilthoven (Niederlande) 344 (1968)
241. PRIMAVESI, C.A. Salmonellenübertragung durch infiziertes Speiseeis Gesundheitswesen und Desinfektion 65. 50 (1973)

242. Public Health
Laboratory Service
- Food poisoning in England and Wales 1957. A report of the Public Health Laboratory Service Monthly Bulletin of Ministry Health Laboratory Service 17. 252 (1958)
243. Public Health
Laboratory Service
- Food poisoning in England and Wales 1959. A report of Public Health Laboratory Service Monthly Bulletin of Ministry Health Laboratory Service 11. 224 (1960)
244. Public Health
Laboratory Service
- Food poisoning in England and Wales 1960. A report of the Public Health Laboratory Service Monthly Bulletin on Ministry Health Laboratory Service 20. 160 (1961)
245. Public Health
Laboratory Service
- Food poisoning in England and Wales 1961. A report of the Public Health Laboratory Service Monthly Bulletin of Ministry Health Laboratory Service 21. 18 (1962)
246. Public Health
Laboratory Service
Working Party
- A comparative assessment of media for the isolation and enumeration of coagulase positive staphylococci from foods
Journal of Applied Bacteriology 35. 673 (1972)
247. PUHAN, Z.
- Qualitätskontrolle von Joghurt
Milchwissenschaft 34. 1158 (1975)
248. PUSCH, J.
- Zum Keimgehalt von Säuglings-trockenmilchpulver
Milchwissenschaft 13. 124 (1958)
249. QUESEDA, A. und
SOLDATI, R.
- Bacteriological research on samples of raw and whipped cream on sale in the city of Naples
Igiene moderna 62. 767 (1969)

250. RACKOW, H.G. Forderungen an die Milchüberwachung und -untersuchung unter besonderer Berücksichtigung der Vorzugsmilch
Archiv für Lebensmittelhygiene 13. 129 (1962)
251. RACKOW, H.G. und POPPE, H.H. Bedeutung und Beurteilung von Galtstreptokokken in Vorzugsmilch
Archiv für Lebensmittelhygiene 14. 133 (1963)
252. RAKETTE zitiert in: WINKLE, S.: Mikrobiologische und serologische Diagnostik, 2. Auflage
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1955)
253. RAUSING, R. und JOHANNSEN, A. Versuche zur Verbesserung der Milchgewinnung auf der schwedischen Milchfarm Simontrop
Milchwissenschaft 17. 345 (1962)
254. PAY, B., JEZESKI, J.J. und BUSTA, F.F. Isolation of salmonellae from naturally contaminated dried milk products
I. Influence of sampling procedure on the isolation of salmonellae
Journal of Milk and Food Technology 34. 389 (1971)
255. REIDY, G. und HEDRICK, T. Cottage cheese in the USA - Part 3-Quality Control
Dairy Industries 33. 531 (1968)
256. REUTER, G. Zur Systematik hygienisch und technologisch wichtiger Bakterien in der Milchwirtschaft
Milchwissenschaftliche Berichte 32. 183 (1972)
257. RHODE, R. und BISCHOFF, J. Spezielle medizinische Mikrobiologie
Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae
Zentralblatt für Bakteriologie I. Referate 159. 145 (1956)
258. RICHTER, B. Ein Beitrag zur hygienischen Prüfung von Trockenmilch
Monatshefte Veterinärmedizin 14. 612 (1959)

259. RIDDELL, J. Food poisoning
Health Bulletin Edinburgh
12. 34 (1954)
260. RIEMANN, H. Food borne infections and
intoxications
Academic Press, New York/London
(1969)
261. RITTER, P. und
SCHWAB, H. Käseereiversuche über die Wirkung
von Mikrokokken auf die Tätigkeit
von Propionibakterien im
Emmentaler Käse
Schweizerische Milchzeitung
Wissenschaftliche Beilage Nr. 117
94. 977 (1968)
262. RITTMAYER, H. Kurzer Beitrag über das Vorkommen
von Staphylokokken in Vorzugsmilch
Archiv für Lebensmittelhygiene
15. 223 (1964)
263. RIVAS, V. Statistical study of the bac-
teriological aspects of cheeses
suspected of having caused food
poisoning
Salud Publica de Mexico 7. 243
(1965)
264. ROEMMELE, O. Sozialhygienische Bedenken zu den
Prüfungsvorschriften von Kinder-
trockenmilch
Archiv für Lebensmittelhygiene
8. 110 (1957)
265. ROEMMELE, O. und
DANNEEL, M. Die hygienisch-bakteriologische Unter-
suchung von Trinkmilch, Milcherzeugnis-
sen, Trockenmilch und Speiseeis
Archiv für Lebensmittelhygiene
15. 1 (1964)
266. ROEMMELE, O. und
WESTPHAL, W. Ergebnisse und Vorschläge über die
hygienische Prüfung von Kinder-
trockenmilch
Milchwissenschaft 12. 133 (1957)
267. ROTHSCCHILD, L. Firm voluntarily recalls butter
because of contamination
Food Chemical News 12. 33 (1970)
268. RUYS, Ch. Bacteriological and epidemiological
data on typhoid fever in Amsterdam
American Journal Public Health
38. 1219 (1948)

269. SARAN-ROSENZUGAIG, A. und
COHEN, R. Escherichia coli serotyp isolated from cases of acute bovine mastitis in two Israeli dairy herds
Refuah Veterinarith (Bel Dayan) 29. 117 (1972)
270. SCHÄFFER, D. Untersuchungen über das Vorkommen von Pseudomonaden und Aeromonaden in Molkereien
Veterinärmedizinische Dissertation Gießen (1972)
271. SCHMIDT-LANGE, W. und
TRAUPE, A. E-Ruhr Epidemie durch Speiseeis
Münchener Medizinische Wochenschrift 105. 1110 (1963)
272. SCHÖNHERR, W. Zur hygienischen Kontrolle von Trockenmilchpräparaten
Monatshefte Veterinärmedizin 17. 107 (1962)
273. SCHORMÜLLER, J. Handbuch der Lebensmittelchemie
Band III/1. Teil
Springer Verlag Berlin - Heidelberg - New York (1968)
274. SCHULTZE, W.D. und
OLSON, J.C. Studies on psychrophilic bacteria
I. Distribution in stored commercial dairy products
Journal of Dairy Science 43. 346 (1960)
275. SCHULTZE, W.D. und
OLSON, J.C. Studies on psychrophilic bacteria
II. Psychrophilic coliform bacteria in stored commercial dairy products
Journal of Dairy Science 43. 351 (1960a)
276. SCHWARZ, G.,
MUMM, H. und
CIBLIS, E. Beitrag zur Herstellung von Pomadurkäs nach verschiedenen Verfahren
Deutsche Molkerei-Zeitung 75. 471 (1954)

277. SEELEMANN, M. Zum primären Vorkommen von
Sc. lactis und von Enterokokken
in der Milchdrüse des Rindes sowie
zur Bedeutung dieser Milchsäure-
streptokokken bei Sekretionsstörun-
gen und anderen Erkrankungen der
Tiere und Menschen
Zentralblatt für Bakteriologie
I. Originale 149. 441 (1942-43)
278. SEELEMANN, M.,
OBIGER, G.,
RACKOW, H.G. und
WELZ, W. Staphylokokkenbefunde und ihre
Beurteilung bei der Überwachung
der Vorzugsmilch
Kieler Milchwirtschaftliche
Forschungsberichte 15. 89 (1963)
279. SEIDEL, G.,
JANECK, K. und
HOFFMANN, G. Über eine nach Genuß von Speise-
eis aufgetretene durch Staph.
aureus verursachte Intoxikation
Monatshefte Veterinärmedizin
17. 782 (1962)
280. SHARPE, M.E.,
FEWINS, B.G.,
REITER, B. und
CUTHBERT, W.A. A survey of incidence of
coagulase-positive staphylococci
in market milk and cheese in
England and Wales
Journal of Dairy Research 32.
187 (1965)
281. SHAW, C. und
CLARKE, P.H. Biochemical classification of
Proteus and Providence cultures
Journal General Microbiology
(London) 13. 155 (1955)
282. SHEHATA, T.E. und
COLLINS, E.B. Isolation and identification of
psychrophilic species of
Bacillus from milk
Applied Microbiology 21. 466 (1971)
283. SHIMZU, K.,
NAKAGAWA, M. und
ONO, T. Bacteriological studies on
streptococci from bovine udder
II. Distribution of Sc. agalac-
tiae in domestic animals and
long-term observations on the
udder which harboured the
organism
Japanese Journal of Veterinary
Research 7. 203 (1959)

284. SIMMONS, J.S. A culture medium for differentiating organisms of typhoid-colon-aerogenes groups and for isolation of certain fungi
Journal of Infectious Disease (Chikago) 39. 209 (1926)
285. SIMONART, P. und POFFE, R. Evolution of bacterial flora in the periphery and the centre of Gouda cheese
XVIII. International Dairy Congress A.46 362 (1970)
286. SINELL, H.J. Enterotoxigenic staphylococci in retail samples of various types of cheese
Vortrag W.A.V.F.H. Round Table Conference "Milk Hygiene", Kiel (1975)
287. SINGER, J. und BAR-CHAY, J. Biochemical investigation of Providence strains and their relationship to the Proteus group
Journal of Hygiene 52. 1 (1954)
288. SINGER, J. und VOLCANI, B.E. An improved ferric chloride test for differentiating Proteus-Providence group from other Enterobactriaceae
Journal of Bacteriology 69. 303 (1955)
289. SINGH, R.S. und RANGANATHAN, B. Occurrence of enteropathogenic Escherichia coli serotypes in milk and milk products
Milchwissenschaft 29. 529 (1974)
290. SINGH, R.S., RANGANATHAN, B. und LAXMINARAYANA, H. Auftreten von pathogenen E. coli in Milch und Milchprodukten
XVIII. Internationaler Milchwirtschaftskongreß I D 148 (1970)
291. Society of American Bacteriologists Manual of Microbiological Methods
New York Mc. Graw-Hill (1957)
292. SOMM, H. Beitrag zur Vermehrungsmöglichkeit koagulasepositiver Staphylokokken in Weichkäse vom Typus des Camembert
Schweizerische Milchzeitung 71. 571 (1971)

293. STAACK, H.H. Eine Paratyphus-B-Milchepidemie
Archiv für Hygiene 137. 355 (1953)
294. STADHOUDERS, J. Technological aspects of the
quality of raw milk
Netherland Milk and Dairy Journal
26. 68 (1972)
295. STEFANOWA-
KONDRATENKO, M. und
TZANEWA, K. Die Mikroflora bulgarischer
Butter
Milchwissenschaft 22. 631 (1967)
296. STEFFEN, C. Die Bedeutung der thermophilen
Milchsäurebakterien für die
gärungstechnischen Vorgänge in
der Hartkäseerei
Deutsche Molkerei-Zeitung 93.
1806 (1972)
297. STEFFEN, W. Salm. typhimurium-Epidemie durch
den Genuß von Vorzugsmilch -
ein Beitrag zur Problematik
"Vorzugsmilch"
Zeitschrift für die gesamte Hygiene
und ihre Grenzgebiete 18. 617 (1972)
298. STORGARDS, T. und
HIETARANTA, M. Microbial oxidation of butter fat
XII. International Dairy Congress
Section II 2. 280 (1949)
299. STÜNZI, H. Pathologie der Mastitis
Schweizer Archiv für Tierheilkunde
115. 335 (1973)
300. SWENNEY, E.J. Observation on the epidemiology
of mastitis due to *Sc. uberis*
in a laboratory herd during a
complete lactation
Research in Veterinary Science
5. 483 (1964)
301. SZEKELYFÖLDI, J. Epidemiologische Untersuchungen
im Zusammenhang mit einer Massen-
vergiftung die durch mit Staph.
verseuchtes Speiseeis verursacht
worden war
Zentralblatt für Bakteriologie
I. Abteilung Referate 192. 66 (1964)
302. SZTURN-RUBINSTEIN, M.M.,
COURTIEU, A.-L. und
MAKA, G. Un fromage contaminé par *Shigella*
sonnei cause d'intoxication
alimentaire
Lait 45. 151 (1965)

303. TAYLOR, A.,
SANTIAGO, A.,
GONZALEZ-CORTES, A. und
GANGAROSA, E. J. Outbreak of typhoid fever in
Trinidad in 1971 traced to
commercial ice cream product
American Journal of Epidemiology
100. 150 (1974)
304. TERPLAN, G. und
WIESNER, H. U. Zur Beurteilung von Kuhställen
im Hinblick auf die Hygiene der
Milchgewinnung
Archiv für Lebensmittelhygiene
22. 158 (1971)
305. THIMANN, K. V. Leben der Bakterien
Fischer-Verlag Jena (1964)
306. THÜRNE, H. und
ANDREN, T. Pseudomonas aeruginosa in
Markenmilch (schwedisch)
Svensk Veterinærtidskrift 22. 680
(1964)
307. THOMAS, M. A blue peroxide slide catalase
test
Monthly Bulletin of Ministry of
Health and Public Health Labora-
tory Service 22. 124 (1963)
308. THOMAS, S. B. Source, incidence and signifi-
cance of psychrophilic bacteria
in milk
Milchwissenschaft 21. 270 (1966)
309. THOMAS, S. B. Psychrotrophic microorganisms in
market cream
Dairy Industries 35. 79 u. 147
(1970)
310. THOMAS, S. B.,
DRUCE, R. G. und
KING, K. P. The microflora of poorly cleaned
dairy equipment
Journal Applied Bacteriology
29. 409 (1966)
311. THOMAS, S. B. und
DRUCE, R. G. Psychrotrophic microorganisms
in butter. A review
Dairy Industries 36. 75 u. 145
(1971)
312. THOMAS, S. B. und
DRUCE, R. G. The incidence and significance
of Coli-aerogenes bacteria in
refrigerated bulk collected milk
Dairy Industries 37. 593 (1972)

313. THOMAS, S.B. und
BLODWEN, F.T. Psychrotrophic bacteria in
refrigerated bulk collected raw
milk, Part 1
Dairy Industries 38. 11 (1973)
314. THOMAS, S.B. und
BLODWEN, F.T. Psychrotrophic bacteria in
refrigerated bulk collected raw
milk, Part 2
Dairy Industries 38. 61 (1973a)
315. THOMAS, W.E.,
STEPHENS, T.H.,
KING, G.J.G. und
THOMPSON, A. Enteritic fever (Paratyphoid B)
apparently spread by pasteurized
milk
Lancet 255. 270 (1948)
316. THOME, K.E. und
LJUNGGREN, B. Psychrophilic bacteria in market
milk
Milk and Dairy Research,
Alnarp Report No 52 (1957)
317. THOMSON, G.J. Coliform bacteria in New Zealand
butter
Journal of Dairy Research 17. 72
(1950)
318. TILL, J. Untersuchungen zum Vorkommen und
zur Charakterisierung milchhy-
gienisch bedeutungsvoller Pseudo-
monaden
Veterinärmedizinische Dissertation
Gießen (1969)
319. TOLLE, A. Allgemeine Einführung zur Unter-
suchung von Nahrungsmitteln auf
nicht-pathogene Bakterien
Archiv für Lebensmittelhygiene
26. 24 (1975)
320. TOLLE, A. und
ZEIDLER, H. Der kontinuierliche Milchentzug -
ein experimentell-chirurgisches
Verfahren zur Gewinnung steriler
Rohmilch
Milchwissenschaft 21. 590 (1969)
321. TOURNEUR, C. Proteolytic activity of some
strains of Lactobacillus isolated
from cheese
XVIII. International Dairy Congress
1 E, 32. 138 (1970)

322. TRINKO, C.E. Untersuchungen zum Überleben von Staphylokokken bei der Herstellung von Quark (russisch) Molochnaya Promyshlennost (Moskau) 33. 7 (1972)
323. TUCKER, C.B. A milk-borne outbreak of shigellosis in Madison County, Tennessee Public Health Report Washington 69. 432 (1946)
324. TWOMEY, A. The ecology of the thermophilic coryneform bacteria PhD-Thesis University Waikato (1975)
325. TZANETAKIS, N.M. Research on coliform organisms in yoghurt (Thessaloniki) Ellenike Kteniatrike 15. 79 (1972)
326. VAUGHN, R.H.,
OSBORNE, J.T.,
WEDDING, G.T.,
TABACHNICK, J.,
BEISEL, C.G. und
BRAXION, T. The utilization of citrate by Escherichia coli Journal of Bacteriology 60. 119 (1950)
327. VEAUX, M.,
ACCOLAS, J.P.,
VASAL, L. und
AUCLAIR, J. Entwicklung der Milchsäure- und Propionibakterien während der Herstellung und Reifung des Gruyere-Käses XIX. International Dairy Congress I D 457 (1974)
328. Verordnung Verordnung über gesundheitliche Anforderungen an Rohmilch und daraus hergestellte Erzeugnisse, die von Milcherzeugern unmittelbar an Verbraucher abgegeben werden (Hygieneverordnung für Milch-ab-Hof-Abgabe) vom 24. Mai 1973
329. WALSER, K. Melkmaschine und Mastitis Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg (1966)
330. WEGNER, K. und
BEHNKE, U. Beiträge zur Reifung von Tollenser Käse in Folie im Vergleich zur herkömmlichen Technologie, 1. Mitteilung Mikrobiologische Untersuchungen Nahrung 16. 643 (1972)

331. WEIGT, U. und
HERWING, H. Zur Verbreitung perakut verlaufender Entzündungen durch ungenügend gereinigte Melkmaschinen Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 74. 610 (1967)
332. WERNER, W. und
ZÜCKLER, H. Epidemiologische Beobachtungen bei der Paratyphus-B-Milch-epidemie Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten 129. 218 (1949)
333. WIESNER, H. U. und
HUMKE, E. Wartung einer Rohrmelkanlage durch Reinigungsautomatik mit Zeitschaltuhr Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 79. 419 (1972)
334. WILSON, C. D. The microbiology of bovine mastitis in Great Britain Bulletin de l'Office International des Epizooties 60. 533 (1963)
335. WILSON, G. S. und
MILES, A. A. Topley and Wilson's principles of bacteriology and immunity 5. Auflage Verlag Arnold (1964)
336. WINKLER, A. Über eine durch Speiseeisgenuß hervorgerufene Massenerkrankung Gesundheitswesen und Desinfektion 56. 143 (1964)
337. WÜSTENBERG, J. Ergebnisse von Speiseeis-Untersuchungen Bericht des Hygiene Instituts des Ruhrgebietes (1970)
338. ZEIDLER, H.,
TOLLE, A. und
HEESCHEN, W. Zur Beurteilung zytologisch-bakteriologischer Untersuchungsbe-funde im Rahmen der Mastitis-diagnostik Milchwissenschaft 23. 674 (1968)
339. ZOTTOLA, E. A.,
JEZESKI, J. J. und
AL-DULAIMI, A. N. Effect of short time-subpasteurization treatments on the destruction of Staph. aureus in milk for cheese manufacture Journal of Dairy Science 52. 1707 (1969)
340. ZURECK, F. Durch Salmonellen verursachte Lebensmittelvergiftungen in Berlin Lebensmitteltierarzt 4. 185 (1953)

ANHANG

Nährmedien und Reagenzien

Sofern nicht anders angegeben, wurden nachstehend aufgeführte Substanzen verwandt:

Acetamid	Merck 8
Agar-Agar, gepulvert	" 1615
Ammoniumoxalat	" 1191
Ammoniumsulfat (NH ₄) ₂ SO ₄	" 1217
Bromkresolpurpur	" 3025
Bromthymolblau	" 3026
Cetyltrimethylammoniumbromid	" 2342
Chinasäure	" 800218
Eisencitrat	" 3862
Eisensulfat FeSO ₄ · 7H ₂ O	" 3963
Eosin	" 1345
Fleischextrakt	" 3979
Fuchsin	" 4041
Glukose	" 8342
Glycerin	" 4091
Hefeextrakt	" 3753
Kaliumhydrogenphosphat K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	" 5099
Kaliumsulfat K ₂ SO ₄	" 5150
Kochsalz	" 6400
Kristallviolett	" 1408
Magnesiumchlorid MgCl ₂ · 6H ₂ O	" 5832
Magnesiumsulfat MgSO ₄ · 7H ₂ O	" 5886
Malachitgrünoxalat	" 1398
Mangansulfat MnSO ₄ · H ₂ O	" 5963
Mannit	" 5982
Methylenblau	" 1283

Natriumhydrogenphosphat	
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Merck 6580
Natriumsulfit	
Na_2SO_3	" 6652
Natriumthioglykolat	" 6691
Pepton, tryptisch	" 7213
Phenolrot	" 7241
Safranin	" 1382
Spezialpepton	" 7214
Tannin	" 773
Trypton	Oxoid L 42

Nährmedien zur Durchführung der Primärtests

I. Konventionelle Verfahren

1. Trypticase-Soy-Bouillon (Oxoid, CM 129)

zur Anzüchtung der Referenzstämme

	g/l
Caseinpepton	17,0
Sojabohnenmehlpepton	3,0
Kochsalz	5,0
D-Glukose	2,5
Kaliumhydrogenphosphat	2,5

pH 7,3 $\pm$ 0,1

abgefüllt zu 7 ml

2. Blutagar

zur Feststellung der Hämolyse, sowie des Katalase- und Cytochromoxydase-Nachweises

	g/l	
Spezialpepton	15,6	} Merck 7881
Hefeextrakt	2,8	
Kochsalz	5,6	
D-Glukose	1,0	
Agar	12,0	

pH 7,5 $\pm$ 0,1

nach dem Auflösen und Sterilisieren des Grundmediums,
Zugabe von 50 ml sterilem Schüttelblut (Rind, Schaf)

3. Weichagar

zur Feststellung der Beweglichkeit

	g/l	
Spezialpepton	15,6	} Merck 7882
Hefeextrakt	2,8	
Kochsalz	5,6	
D-Glukose	1,0	
Agar	2,5	

pH 7,5 $\pm$ 0,1

der gelöste Nährboden wird zu 5 ml in Röhrchen abgefüllt
und 15 Minuten bei 121°C autoklaviert.

4. HUGH-LEIFSON-Medium

zur Feststellung des Glukoseabbaus

	pro 1
Pepton, tryptisch	2,0 g
Hefeextrakt	1,0 g
Kochsalz	5,0 g
Kaliumhydrogenphosphat	0,3 g
Agar	3,0 g
D-Glukose	10,0 g
0,3 %ige wässrige Lösung von Bromthymolblau	10,0 ml

pH 7,1 $\pm$ 0,1

im Dampftopf lösen, zu 7 ml in Röhrchen (1 x 9 cm) abfüllen, 3 mal im Abstand von 24 Stunden im Dampftopf sterilisieren. Zur Feststellung des fermentativen Abbaus werden ein Teil der Röhrchen vor dem Sterilisieren mit 2 ml Paraffinöl (Paraffinöl, dickflüssig MERCK) überschichtet. Zur Entfernung des Luftsauerstoffs werden überschichtete Röhrchen vor dem Beimpfen nochmals erhitzt.

5. Mangansulfat-Agar

zur Feststellung der Sporenbildung

	g/l
Fleischextrakt	10,0
Pepton, tryptisch	10,0
Kochsalz	1,0
Agar	10,0
Mangansulfat	0,01

pH 6,8 $\pm$ 0,1

II. Mikrotiter-Primärtest-System

1. Blutagar

zur Feststellung der Hämolyse

s. konventionelle Verfahren

2. Trypticase-Soy-Bouillon

zur Anzüchtung der Referenzstämme und der aus Milch und Milchprodukten isolierten Stämme

s. konventionelle Verfahren

3. Trypticase-Soy-Agar (TS-Agar)

zum Nachweis von Katalase und Cytochromoxydase

	g/l	
Caseinpepton	17,0	} Oxoid CM 129
Sojabohnenmehlpepton	3,0	
Kochsalz	5,0	
D-Glukose	2,5	
Kaliumhydrogenphosphat	2,5	
Agar	12,0	
pH 7,3 $\pm$ 0,1		

4. Brain-Heart-Infusion-Agar

zur Feststellung der Beweglichkeit

	g/l	
Kalbshirninfus	12,5	} Oxoid CM 225
Rinderherzinfus	5,0	
Proteose-Pepton	10,0	
D-Glukose	2,0	
Kochsalz	5,0	
Natriumhydrogenphosphat	2,5	
Agar	2,0	
pH 7,4 $\pm$ 0,1		

5. HUGH-LEIFSON-Medium I

zur Feststellung des oxydativen Glukoseabbaus

	g/l
Pepton, tryptisch	2,0
Hefeextrakt	1,0
Kochsalz	5,0
Kaliumhydrogenphosphat	0,3
Agar	3,0
D-Glukose	10,0
Bromkresolpurpurlösung ⁺⁾	20,0 ml

pH 7,1 $\pm$ 0,1

⁺⁾ Bromkresolpurpur 0,15 g
n/100 Natronlauge 18,5 ml
Aqua dest ad 250 ml

6. HUGH-LEIFSON-Medium II

zur Feststellung des fermentativen Glukoseabbaus

Zugabe von 0,5 g Natriumthioglykolat
zu HUGH-LEIFSON-Medium I.

Nach dem Abfüllen in Mikrotiter-Tabletts werden die
einzelnen Kavitäten mit sterilem Paraffinöl überschichtet.

7. Mangansulfat-Agar

zur Feststellung der Sporenbildung

s. konventionelle Verfahren

Nährmedien zum Nachweis von Indikatorkeimen

1. Brillantgrün-Galle-Laktose-Lösung (Oxoid, CM 31)
zum Nachweis coliformer Bakterien

	g/l
Pepton	10,0
Laktose	10,0
Rindergalle	20,0
Brillantgrün	0,0133

pH 7,4 $\pm$ 0,1

zu 10 ml in Röhrchen abfüllen, die DURHAM-Röhrchen
enthalten, autoklavieren 15 Minuten bei 121⁰ C.

2. SLANETZ-BARTLEY-Medium (Oxoid, CM 377)
zum Nachweis von Enterokokken

	g/l
Pepton, tryptisch	20,0
Hefeextrakt	5,0
D-Glukose	2,0
Natriumhydrogenphosphat	4,0
Natriumazid	0,4
Triphenyltetrazoliumchlorid	0,1
Agar	10,0

pH 7,2 $\pm$ 0,1

Nährmedien zur Bestimmung der Keimzahl

1. Plate-count-Agar (Merck, 5463)

	g/l
Caseinpepton	5,0
Hefeextrakt	2,5
D-Glukose	1,0
Agar	11,5

pH 6,9 - 7,1

Zugabe von 10 ml steriler Magermilch vor dem
Gebrauch des Mediums.

2. Blutagar

s. konventionelle Verfahren

Medium und Tests zum Nachweis bzw. zur Identifizierung
pathogener Bakterien

1. Salmonellen

1.1 Nichtselektives Medium
zur Reaktivierung

	g/l
Pepton, tryptisch	10,0
Kochsalz	5,0
Natriumhydrogenphosphat	9,0
Kaliumhydrogenphosphat	1,0
pH 7,2 $\pm$ 0,1	

1.2 Tetrathionat-Bouillon (Oxoid, CM 29)

	g/l
Trypton	7,0
Sojabohnenmehlpepton	2,3
Kochsalz	2,3
Calciumcarbonat	25,0
Natriumthiosulfat	40,7
Rindergalle	4,75
Jod-Jodkalium-Lösung	19 ml
0,1 %ige Brillantgrün-Lösung	9,5 ml
pH 7,2 $\pm$ 0,1	

1.3 Brillantgrün-Phenolrot-Laktose-Agar (Merck, 7236)

	g/l
Spezialpepton	6,9
Laktose	15,0
Phenolrot	0,04
Brillantgrün	0,005
Kochsalz	5,1
Agar	13,0
pH 6,5 $\pm$ 0,1	

1.4 API 20 E, Biologische Arbeitsgemeinschaft, Lich

1.5 Polyvalentes Salmonella-Sérum, Behring-Werke

2. Staphylococcus aureus

2.1 Kaliumtellurit-Bouillon (Merck, 7892)

	g/l
Caseinpepton	10,0
Sojabohnenmehlpepton	3,5
Hefeextrakt	6,5
D-Mannit	5,0
Glykokoll	10,0
Kaliumhydrogenphosphat	5,0
Lithiumchlorid	5,0
Natriumpyruvat	10,0

pH 7,3 - 7,5

Lösung 15 Minuten bei 121° C autoklavieren, Zugabe von 5,7 ml einer 3,5 %igen sterilen Kaliumtellurit-Lösung (Oxoid, SR 30)

2.2 BAIRD-PARKER-Agar (Oxoid, CM 275)

	g/l
Fleischextrakt	5,0
Caseinpepton	10,0
Hefeextrakt	1,0
Natriumpyruvat	10,0
Glykokoll	12,0
Lithiumchlorid	5,0
Agar	20,0

pH 6,8 ± 0,2

Nach der Sterilisation im Autoklaven Zugabe von 50 ml Eidotter-Kaliumtellurit-Konzentrat (Oxoid, SR 54).

2.3 Blutagar

s. konventionelle Verfahren

2.4 Plasmakoagulase-Test

Zu 0,5 ml Plasma werden 0,1 ml einer 18-24-stündigen Bouillonkultur gegeben und bei 37° C im Wasserbad inkubiert.

Koagulasepositive Staphylokokken bringen nach 1-24 Stunden das Plasma zur Gerinnung.

2.5 Anaerobe Mannit-Vergärung

	g/l
Pepton, tryptisch	2,0
Hefeextrakt	1,0
Kochsalz	5,0
Kaliumhydrogenphosphat	0,3
Agar	3,0
Mannit	10,0
Bromkresolpurpur-Lösung ⁺⁾	20,0 ml

pH 7,1 $\pm$ 0,1

⁺⁾ Bromkresolpurpur 0,1 g, n/100 Natronlauge 18,5 ml,
Aqua dest ad 250 ml

zu 5 ml in Röhrchen abfüllen und mit Paraffinöl überschichten.

Sterilisation s. HUGH-LEIFSON-Medium

3. β -hämolyzierende Streptokokken

3.1 Streptosel-broth

	g/l	
Caseinpepton	14,4	} Merck 5453
Sojabohnenmehlpepton	5,0	
Kochsalz	4,0	
Natriumcitrat	1,0	
L-Cystin	0,2	
Natriumsulfit	0,2	
D-Glukose	5,0	
Natriumazid	0,2	
Kristallviolett	0,0002	
Bromkresolpurpur-Lösung ⁺⁾	20,0 ml	

pH 7,3 - 7,5

⁺⁾ s. Mannit-Vergärung

Dem sterilisierten und auf ca. 45° C abgekühlten Nährmedium wird 1 μ g Kanamycin/ml zugegeben.

Umgeschlagene Kölbchen werden auf Blutagar subkultiviert.

3.2 Blutagar

s. konventionelle Verfahren

4. Pseudomonas aeruginosa

4.1 Chinasäuremedium nach KORTH

zur Anreicherung

	g/l
Kaliumhydrogenphosphat	4,0
Magnesiumsulfat	1,0
Eisensulfat	0,05
Chinasäure	20,0
Ammoniumsulfat	5,0

pH 7,2 $\pm$ 0,1

4.2 Blutagar

zur Feststellung der β -Hämolyse und des Geruchs sowie des Cytochromoxydase-Nachweises

s. konventionelle Verfahren

4.3 GMAC-Medium nach MOSSEL

Pepton, tryptisch	20,0 g
Magnesiumchlorid	1,4 g
Kaliumsulfat	10,0 g
Agar	13,6 g
Cetyltrimethylammonium- bromid	0,3 g
Glycerin	5,0 g
Mannit	5,0 g
Aqua dest	900,0 ml

pH 6,8

zu 90 ml abfüllen und 15 Minuten bei 121° C autoklavieren.

Nach dem Abkühlen auf ca. 50° C 10 ml folgender steriler Lösung dazugeben:

Acetamid	10,0 g
Phenolrot	0,012 g
Aqua dest	100,0 ml

Das Medium als Schrägagar ausgießen.

4.4 Pyocyanin-Nachweis

Extrahierung des Pyocyanins durch Zugabe von 1 ml Chloroform zu einer 24-stündigen TS-Bouillon-Kultur (5 ml).

5. Bacillus cereus

5.1 Eigelb-Agar

zum Nachweis von Lecithinase

	g/l
Spezialpepton	15,6
Hefeextrakt	2,8
Kochsalz	10,0
D-Glukose	1,0
Agar	12,0

pH 7,0 $\pm$ 0,1

Nach dem Autoklavieren und Abkühlen auf ca. 50° C
Zugabe von 50 ml Eigelb-Emulsion (Oxoid, SR 47).

5.2 Kochsalz-Bouillon

Wachstum in Gegenwart von 7 bzw. 10 % Kochsalz

	g/l
Spezialpepton	15,6
Hefeextrakt	2,8
Kochsalz	70,0 bzw. 100,0
D-Glukose	1,0

pH 7,4 - 7,6

6. Sulfitreduzierende Clostridien

6.1 Sulfit-Eisen-Polymyxin-Lösung

	g/l
Trypton	15,0
Hefeextrakt	10,0
Fleischextrakt	3,0

pH 7,0 $\pm$ 0,1

Nach dem Autoklavieren des Basalmediums Zugabe von je
10 ml folgender steriler Lösung: 5 %ige Natriumsulfit-,
5 %ige Eisencitrat- und 0,1 %ige Polymyxin-Lösung (Pfizer).

6.2 Blutagar

zur Feststellung der β -Hämolyse

s. konventionelle Verfahren

Färbemethoden

1. GRAM-Färbung (modifizierte HUCKER-Färbung)

- Ausstrich fixieren
- Einwirkung von Kristallviolett-Ammoniumoxalat-Lösung für 1 Minute
- vorsichtig abspülen
- Trocknung des Präparates
- 2 Minuten LUGOL'sche Lösung einwirken lassen
- in Alkohol entfärben (bis zur Beendigung der Farbwolkenbildung)
- Nachfärben mit Safranin-Lösung⁺⁺)
- Abspülen und Trocknen

+)	Lösung A	Kristallviolett	2,0 g
		Äthanol	20,0 ml
	Lösung B	Ammoniumoxalat	0,8 g
		Aqua dest	80,0 ml

Lösung A und B werden zu gleichen Teilen gemischt.
Macht die Entfärbung Schwierigkeiten, kann die
Lösung A 1:10 verdünnt werden.

++)	Safranin (2,5 % in 0,5 %igem Äthanol)	10,0 ml
	Aqua dest	100,0 ml

2. Sporenfärbung nach RAKETTE

- Fixieren des lufttrocknen Ausstriches durch 6-8 maliges durch die Flamme ziehen
- Färben mit 5 %iger wässriger Malachitgrün-Lösung, 20 Sekunden aufkochen, danach 60 Sekunden einwirken lassen
- kräftig abspülen
- 1 Minute mit 2,5 %iger wässriger Eosin-Lösung nachfärben
- Abspülen und Trocknen.

3. ZIEHL-NEELSEN-Färbung

- Fixierte Ausstriche mit Karbolfuchsin bedecken
- Objektträger erhitzen bis zur Dampfbildung
- Farbstoff nach dem Erkalten abgießen
- Entfärbung in Salzsäure-Alkohol
- gründlich abspülen
- Gegenfärbung mit Methylenblau, für 15 Sekunden
- abspülen und trocknen

4. Geißel-Färbung nach LEIFSON

- Objektträger ca. 1 Woche in Nitratschwefelsäure legen und danach ausgiebig mit Wasser spülen, trocknen
- Kultur ausstreichen
- unfixiertes Präparat mit 1 ml Farbbeize-Mischung⁺⁾ bedecken und bis 20 Min. einwirken lassen
- Abspülen und Trocknen

⁺⁾ Farbbeize-Mischung

- 1,5 %ige wässrige Kochsalz-Lösung
 - 3,0 %ige wässrige Tannin-Lösung
 - 1,2 %ige alkoholische basische Fuchsin-Lösung
- zu gleichen Teilen mischen

Herrn Professor Dr. Tolle möchte ich für die Überlassung des Themas, seine gewährte Unterstützung und Förderung meinen aufrichtigen Dank aussprechen.

Desgleichen gilt mein Dank allen Mitarbeitern des Instituts - insbesondere Herrn Dr. Hahn - für die stete Hilfsbereitschaft.

Lebenslauf

Ingrid O t t e

7. 04. 1938 geboren in Rostock
- 1945 - 1957 Grund- und Oberschulbesuch in Güstrow
- 1957 Reifezeugnis
- 1957 - 1958 Ableistung eines produktionspraktischen Jahres
- 1958 - 1960 Ausbildung als Veterinärtechniker an der Fachschule für Veterinärmedizin in Rostock
- 1960 - 1962 Tätigkeit als Veterinärtechniker am Veterinäruntersuchungs- und Tiergesundheitsamt in Schwerin
- 1962 - 1968 Studium der Veterinärmedizin an der Humboldt-Universität in Berlin
- 1968 Tierärztliches Staatsexamen
- 1968 - 1969 Ableistung der Pflichtassistentenzeit im Bezirk Schwerin
6. 05. 1969 Approbation als Tierarzt
- 1969 - 1971 Labortierarzt am Veterinäruntersuchungs- und Tiergesundheitsamt Schwerin, Abteilung Lebensmittelhygiene
- 1971 - Okt. 73 Leiterin des mikrobiologischen Laboratoriums am Institut für Fleischwirtschaft in Magdeburg
- Oktober 1973 Flucht in die Bundesrepublik
- November 1973 Wissenschaftliche Angestellte im Institut für Hygiene der Bundesanstalt für Milchwissenschaft

